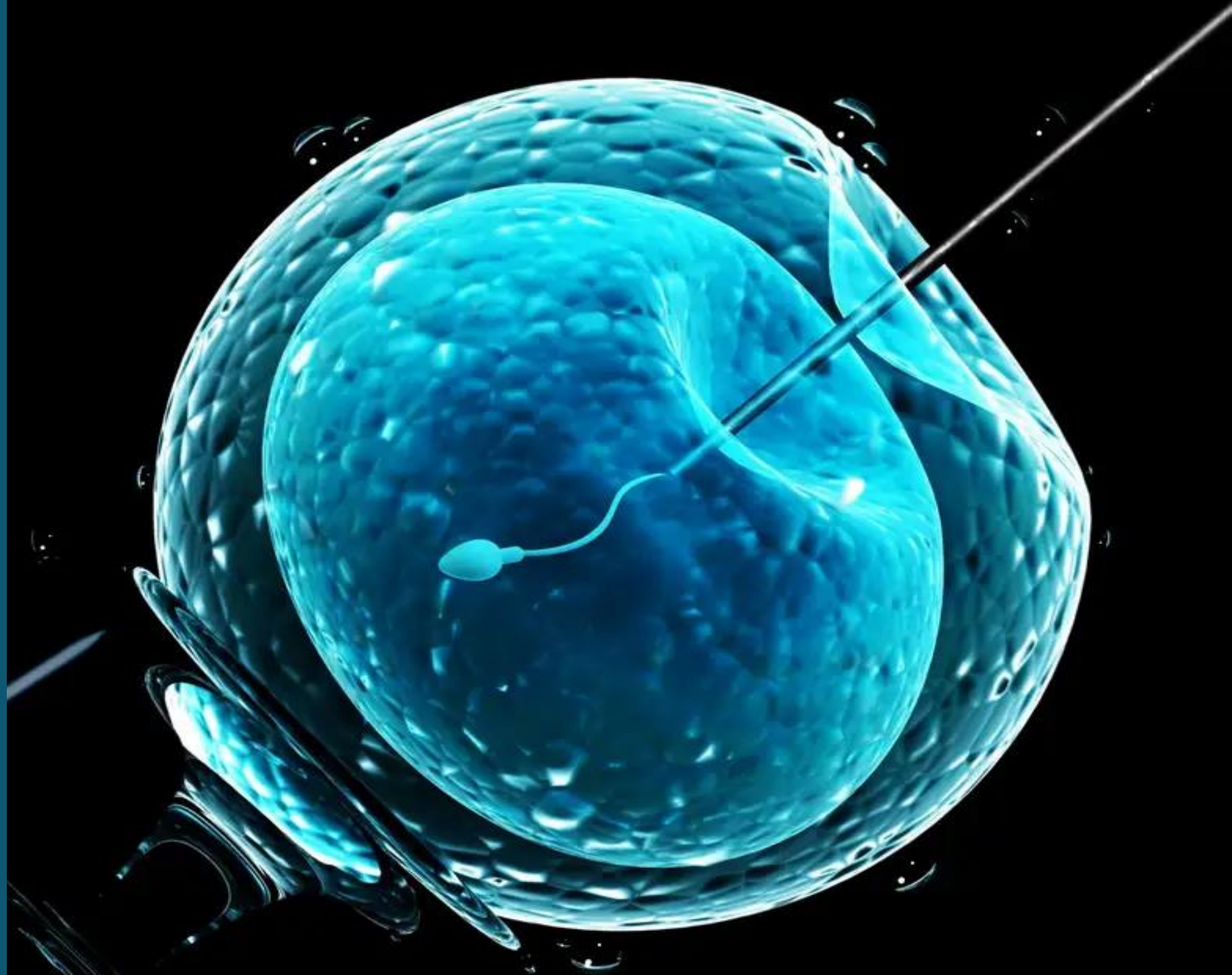


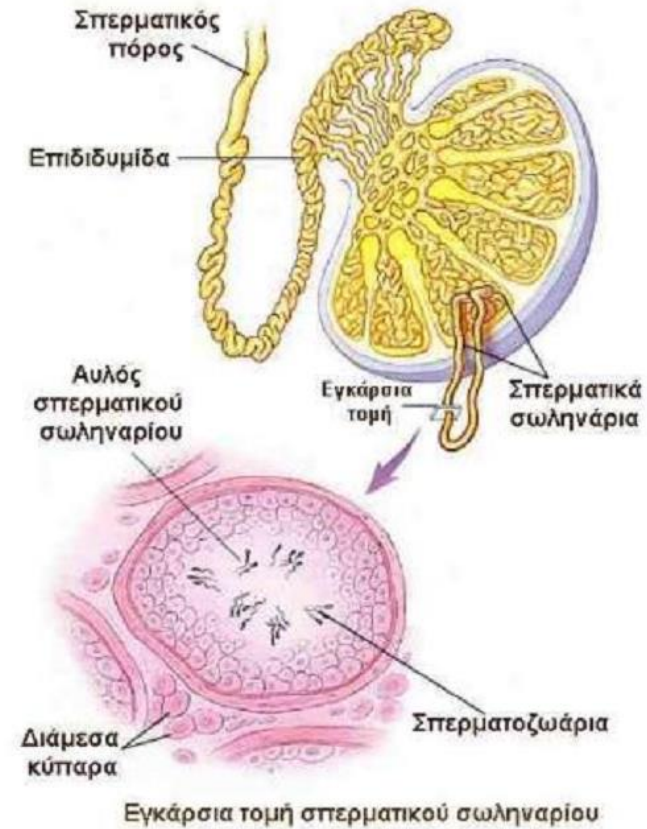
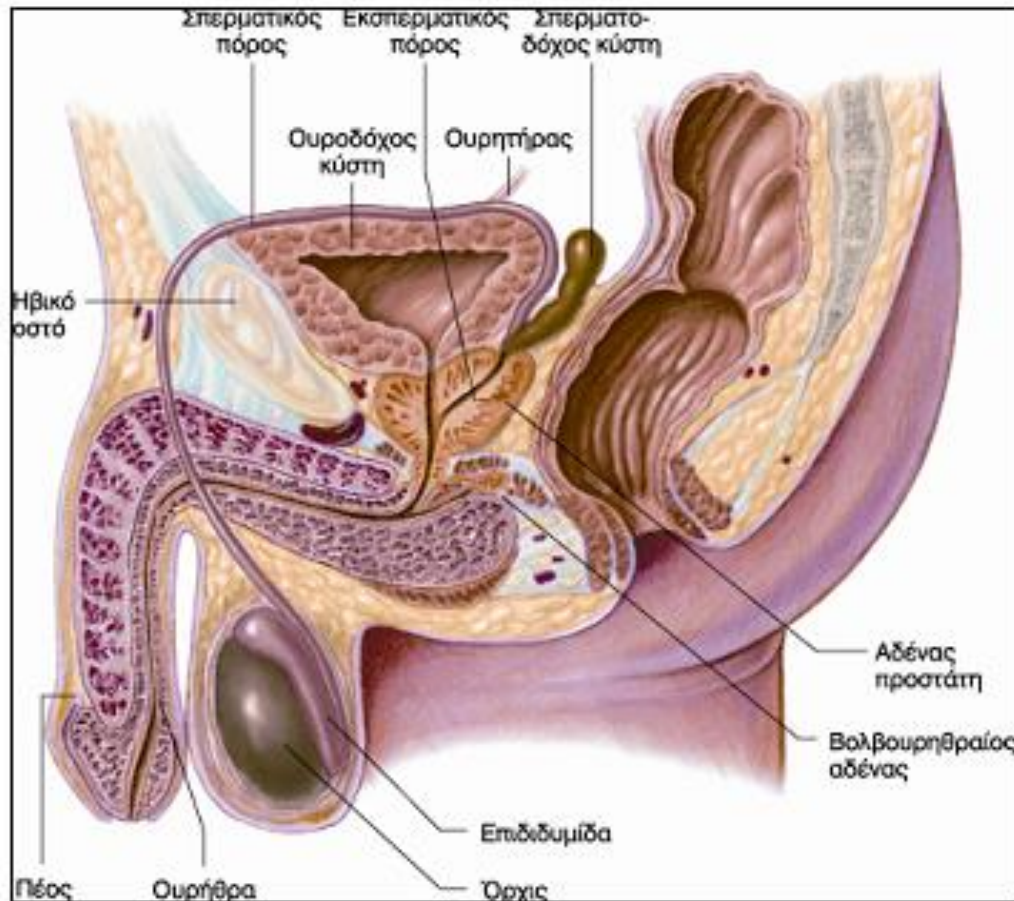
Ανδρική Υπογονιμότητα και Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή

Αθανάσιος Παππάς MD, PhD
Ιατρός Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής
Bourn Hall, University of Cambridge
Κλινική ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ Α.Ε.





ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΑΝΔΡΙΚΟΥ ΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ



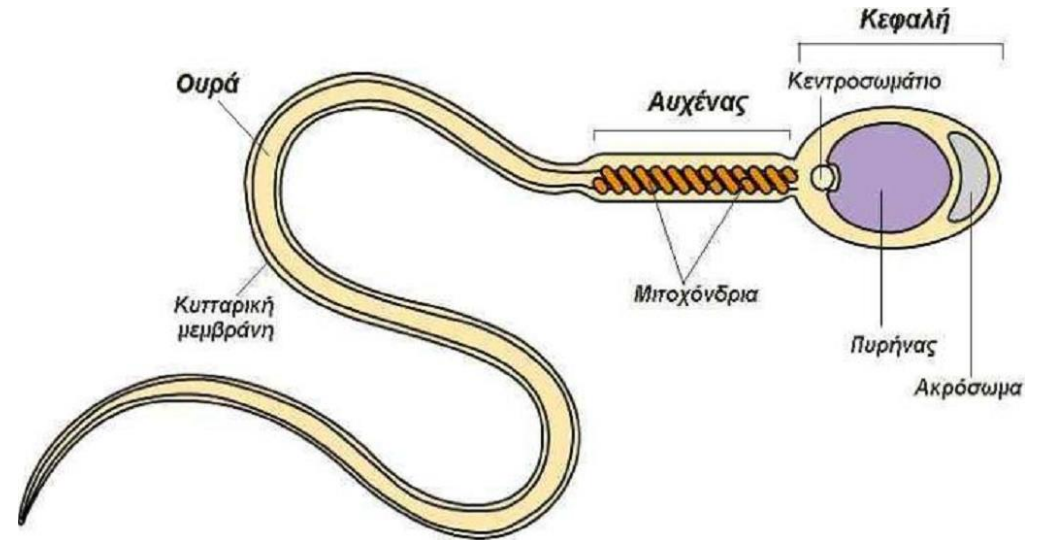


ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΟ

Το σπερματοζωάριο αποτελείται από τρία μέρη, την κεφαλή, τον αυχένα και την ουρά.

Στην κεφαλή του σπερματοζωαρίου υπάρχουν:

- **Ο απλοειδής πυρήνας** που προήλθε από τη μειωτική διαίρεση κατά τη σπερματογένεση. Ο πυρήνας υφίσταται συγκεκριμένες μορφολογικές αλλαγές που τον κάνουν πιο συμπαγή και επιμήκη, ώστε να προστατεύεται από την υπεριώδη ακτινοβολία και από μεταλλαξιγόνες χημικές ουσίες, που πιθανό να έχει το μελλοντικό περιβάλλον στο οποίο θα βρεθεί.
- **Το ακρόσωμα**, ένα εξειδικευμένο λυσόσωμα, που περιβάλλει το πρόσθιο μέρος του πυρήνα και περιέχει λυτικά ένζυμα χρήσιμα για τη διάλυση των προστατευτικών στρωμάτων του ωαρίου κατά τη γονιμοποίηση.
- **Το κεντροσωμάτιο**, που βρίσκεται στην κεφαλή κοντά στον αυχένα και παίζει σημαντικό



Τα μιτοχόνδρια, σε εξαιρετικά μεγάλο αριθμό συγκριτικά με το μέγεθος του σπερματοζωαρίου. Τα πολλά μιτοχόνδρια ικανοποιούν τις αυξημένες απαιτήσεις του σπερματοζωαρίου σε ενέργεια (ATP), λόγω της κίνησής του.



ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΓΕΝΕΣΗ

- ➔ **Θερμοκρασία:**
Στην κρυφορχία όπου οι όρχεις δεν έχουν κατέβει στο όσχεο (MIS) αλλά βρίσκονται σε περιβάλλον 2-3οC μεγαλύτερης θερμοκρασίας της φυσιολογικής, τότε η σπερματική σειρά είναι ανύπαρκτη. (2-5 ετών κατεβαίνουν μόνοι τους, χορηγούνται γοναδοτροπίνες ή και χειρουργικά)
- ➔ **Ανεπάρκεια βιταμίνης A & E:**
πλήρη & μη αντιστρεπτή απώλεια σπερματογόνων
- ➔ **Δόση ακτινοβολίας 250R(Roentgen):**
στείρωση ενός έτους, οριστική με 500-600R
- ➔ **Vasectomy-αμφοτερόπλευρη απολίνωση σπερματικού πόρου-reversal**



ΕΞΕΤΑΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΚΑΙ Η ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ

Σπερμοδιάγραμμα

- Αξιόπιστο: δύο φορές σε διάστημα ενός μηνός
 - Αρχικές εξετάσεις: ρευστοποίηση-γλοιότητα-pH
 - Όγκος εκσπερμάτηματος
 - Κύριες παραμέτρους: αριθμός- κινητικότητα-μορφολογία σπερματοζωαρίων
 - Μικροβιολογική-Βιοχημική-Ανοσολογική

Εξέταση για αντισπερμικά αντισώματα

Άλλα εξίσου σημαντικά αποτελέσματα είναι:

- Οξύτητα (pH): ≥ 7.2
- Λευκά αιμοσφαίρια: $< 1 \times 10^6$
- Συγκολλημένα σπερματοζωάρια: $< 50\%$

Ασπερμία: Η απουσία υλικού ύστερα από εκσπερμάτιση.

Αζωοσπερμία: Η απουσία σπερματοζωαρίων στο δείγμα του σπέρματος.

Κρυπτοαζωοσπερμία: Η παρουσία μερικών σπερματοζωαρίων μόνο ύστερα από φυγοκέντριση του δείγματος.

Υποσπερμία: Ο μικρός όγκος σπέρματος.

Ολιγοσπερμία: Ο μικρός αριθμός σπερματοζωαρίων $< 15 \times 10^6$ σπερματοζωάρια/ml ή $< 39 \times 10^6$ σπερματοζωάρια συνολικά)

Ασθενοσπερμία: Αυξημένη παρουσία σπερματοζωαρίων με ανώμαλη μορφή ($< 4\%$ σπερματοζωάρια με φυσιολογική μορφή)

Τερατοσπερμία: Μειωμένη κινητικότητα Σπερματοζωαρίων ($< 32\%$ προωθητική κινητικότητα)

Νεκροσπερμία: Παρουσία στο δείγμα μόνο νεκρών σπερματοζωαρίων.



ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

Μακροσκοπική εξέταση

1. Ρευστοποίηση
2. Εμφάνιση
3. Όγκος
4. Ιξώδες
5. pH

Μικροσκοπική διερεύνηση

- Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων
- Κινητικότητα
- Μορφολογία
- Παρουσία άλλων κυτταρικών στοιχείων
- Συγκολλήσεις

Ρευστοποίηση δείγματος

- Φυσιολογικά εντός 60 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου (συνήθως σε 15').
- Παρουσία ζελατινοειδών σωματίων, χωρίς κλινικό ενδιαφέρον.
- Καλή ανάδευση δείγματος (όχι βίαιες κινήσεις).
- Σε περίπτωση αδυναμίας ρευστοποίησης, μηχανική ανάμειξη δείγματος ή χρήση ενζύμων ή ανάμειξη δείγματος με καλλιεργητικό υλικό και ανάδευση.
- Καταγραφή του χρόνου ή της αδυναμίας ρευστοποίησης.



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

Εμφάνιση δείγματος: Εξέταση μετά τη ρευστοποίηση ή μέσα σε 1 ώρα από την εκσπερμάτιση.

1. Φυσιολογικό δείγμα: ομοιογενής εμφάνιση, χρώμα ώχρας-γκρι.
2. Πιθανώς λιγότερο αδιαφανές αν συγκέντρωση σπερματοζωαρίων πολύ μικρή.
3. Κοκκινο-καφέ απόχρωση πιθανή παρουσία ερυθροκυττάρων.
4. Κιτρινωπή απόχρωση πιθανός ίκτερος ή ένδειξη λήψης βιταμινών από τον εξεταζόμενο.

Όγκος δείγματος: Μετράται με βαθμονομημένες πιπέτες.

Έλεγχος ιξώδους: Το δείγμα αναρροφάται σε πιπέτα όγκου 5 ml, αφήνεται με τη βοήθεια της βαρύτητας να πέσει σε σταγόνες από την πιπέτα και παρατηρείται το μήκος του νήματος που σχηματίζεται.

- Φυσιολογικό δείγμα μικρές διακριτές σταγόνες, όχι νήμα μήκους > 2 cm.
- Υψηλό ιξώδες πιθανός συσχετισμός με κινητικότητα / συγκέντρωση σπ/ρίων ή παρουσία αντισωμάτων.

pH δείγματος

- Μέτρηση pH εντός 60'.
- Σταγόνα δείγματος σε pH stick.
- Μετά από 30 sec , σύγκριση χρώματος stick με τα χρωματικά πρότυπα της συσκευασίας.
- Αν $\text{pH} < 7$ σε δείγμα με αζωοσπερμία πιθανή απόφραξη σπερματοφόρων αγωγών ή συγγενή αμφοτερόπλευρη έλλειψη σπερματοφόρων πόρων.



ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΟΥ ΚΑΤΑ ΑΥΣΤΗΡΑ ΚΡΙΤΗΡΙΑ KRUGER

- Μήκος κεφαλής 4.0 – 5.0 μm
- Πλάτος κεφαλής 2.5 – 3.5 μm
- Σχήμα ομαλό ωοειδές
- Ακρόσωμα σε επιφάνεια 40-70% της κεφαλής
- Αυχένιας 6-10 μm

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΩΜΑΛΙΕΣ

Κεφαλής: Μακροκέφαλα, μικροκέφαλα, στρογγυλές, επιμήκεις, πολλαπλές κεφαλές

Αυχένα: Παρουσία κυτταροπλαστικών υπολειμμάτων, έλλειψη μέσου τμήματος, παχύς ή λεπτός αυχένιας

Ουράς: Πολλαπλές, γωνιώδεις, βραχείες, σπειροειδείς, σπασμένες ουρές

Κριτήρια αξιολόγησης WHO

- Εναιώρημα κυττάρων-των σπερματοζωαρίων-μέσα σε ένα υγρό-το σπερματικό πλάσμα.
- Όγκος \geq 1.5ml 95% του όγκου από επικουρικούς αδένες.
- pH \geq 7.2
- Πυκνότητα 15-250x10⁶/ml. Μέση τιμή: 100x10⁶/ml. (5% του όγκου.)
- Κινητικότητα με πρόσθια κίνηση \geq 40%
- Ζωντανά Σπερματοζωάρια \geq 50%
- Φυσιολογική μορφολογία \geq 96%



Διαγνωστική προσέγγιση του υπογόνιμου άνδρα

Πρωτοπαθής ή Δευτεροπαθής (αν έχει προηγηθεί εγκυμοσύνη με την ίδια ή άλλη σύντροφο).

Αν έχει πραγματοποιηθεί οποιαδήποτε άλλη θεραπεία για την υπογονιμότητα και ποιιά ήταν τα αποτελέσματά

Οικογενειακό Ιστορικό: Εξετάζεται η ύπαρξη υπογονιμότητας σε άλλα μέλη της οικογένειας (πρώτου βαθμού συγγενείς) και αναφέρεται η ύπαρξη συγγενών ανωμαλιών όπως η κυστική ίνωση, το σύνδρομο Young κ.α.

Η **πρώιμη ήβη** μπορεί να οφείλεται σε ανδρογενετικό σύνδρομο των επινεφριδίων ενώ η καθυστερημένη ήβη μπορεί να υποδηλώνει σύνδρομο Klinefelter ή ιδιοπαθή υπογοναδισμό.



Ατομικό Αναμνηστικό Υπογόνιμου Άνδρα

παθήσεις των όρχεων: κρυψορχία σε παιδική ηλικία, μεταπαρωτιδική ορχίτιδα, συστροφή όρχεως, ορχικό τραύμα κ.α.
λοιμώξεις του ουροποιογεννητικού συστήματος.

πρόσφατη σοβαρή λοίμωξη ή παρατεταμένη εμπύρετη νόσο (η υπερπυρεξία $>38.5^{\circ}\text{C}$, ανεξάρτητα αιτιολογίας έχει κατασταλτική επίδραση στη σπερματογένεση μέχρι και για 6 μήνες).

συστηματικές νόσοι: σακχαρώδης διαβήτης, νευρολογικές νόσοι, ηπατική και νεφρική ανεπάρκεια, για θυρεοειδοπάθεια, για επινεφριδιακή νόσο και για διαταραχές του υποθαλάμου-υπόφυσης (κεφαλαλγίες, διαταραχές όρασης και όσφρησης, πολυδιψία και μεγαλακρία).



ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΑΝΔΡΙΚΗΣ ΥΠΟΓΟΝΙΜΟΤΗΤΑΣ

Χειρουργικές επεμβάσεις:

- στο όσχεο (υδροκήλη, ορχεοπηξία κ.α.),
- στη βουβωνική χώρα (κήλες, κίρσοκήλη),
- στην ουροδόχο κύστη,
- στον προστάτη,
- στην πύελο.

Φαρμακευτικές ουσίες:

(επηρεάζουν την παραγωγή και την λειτουργία των σπερματοζωαρίων)

- αναβολικά στεροειδή,
- σιμετιδίνη,
- νιτροφουραντοίνη,
- σπιρονολακτόνη,
- κυκλοσπορίνη,
- διάφορα αντιβιοτικά,
- χημειοθεραπευτικές ουσίες

Γοναδοτοξικοί παράγοντες:

- Κάπνισμα: μείωση της κινητικότητας και μορφολογικές ανωμαλίες στα σπερματοζωάρια
- Αλκοόλ: στον άξονα "Υποθάλαμος -Υπόφυση- Γονάδες" με αποτέλεσμα την μείωση της ορχικής παραγωγής τεστοστερόνης
- Ναρκωτικά (μαριχουάνα και κοκαΐνη) καταστολή του υποθάλαμου.
- Επαγγελματική ή περιβαλλοντική έκθεση σε ακτινοβολία, τοξικές χημικές ουσίες (φυτοφάρμακα, εντομοκτόνα, βαρέα μέταλλα κ.α), η χρόνια έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες καθώς και η πιθανότητα ακτινοθεραπείας ή χημειοθεραπείας.
- Η χρήση λιπαντικών του κόλπου



ΚΛΙΝΙΚΑ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ

Υπογοναδισμός: πτωχή ανάπτυξη δευτερευόντων χαρακτηριστικών του φύλου, μη φυσιολογική μυϊκή διάπλαση, απουσία ανδρικής κατανομής της τρίχωσης, ευνουχοειδής ανάπτυξη των έξω γεννητικών οργάνων, γυναικομαστία (σύνδρομο Klinefelter, ενδογενή και εξωγενή οιστρογόνα ή λήψη φαρμάκων-δακτυλίτιδα, σπιρονολακτόνη)

Πέος: Ελέγχεται για μικροφαλλία, υποσπαδία, συγγενή κάμψη ή φίμωση.

Όρχεις:

- Μικροί όρχεις (<12 cm³) συνιστούν ισχυρή ένδειξη για βλάβη στην σπερματογένεση (βλάβη του σπερματικού επιθηλίου).
- Πολύ μικροί όρχεις (<3 cm³) συναντώνται σε άτομα με σύνδρομο Klinefelter.
- Μεγάλος όγκος όρχεων (>35 cm³) μπορεί να είναι φυσιολογικό εύρημα ή να βρεθεί σε άτομα με το Σύνδρομο του εύθραστου Χ.
- Η μαλακή σύσταση είναι ενδεικτική διαταραχής στη σπερματογένεση ενώ η ψηλάφηση ανώδυνης σκληρίας θέτει την υπόνοια κακοήθειας.

Όσχεο: Το όσχεο εξετάζεται με τον ασθενή σε όρθια θέση (κιρσοκήλη).



Ορμονικός έλεγχος υπογόνιμου άνδρα

Γίνεται σε άνδρες με βαρεία oligospermia ή azoospermia:

FSH, LH, Testosterone, Προλακτίνη

- Χαμηλά επίπεδα Τεστοστερόνης, FSH, LH: δευτεροπαθής υπογοναδισμός.
- Μεγάλη αύξηση FSH και azoospermia :βαρεία βλάβη του σπερματικού επιθηλίου.
- Χαμηλά επίπεδα τεστοστερόνης και υψηλές FSH, LH με azoospermia: πρωτοπαθή ορχική βλάβη.
- Χαμηλά επίπεδα γοναδοτροπινών και τεστοστερόνης με azoospermia: υπογοναδοτροπικό υπογοναδισμό.
- Φυσιολογικές τιμές Τεστοστερόνης και γοναδοτροπινών με azoospermia: απόφραξη.
- Φυσιολογικές τιμές τεστοστερόνης, γοναδοτροπινών και oligospermia: κυρίως κηρσοκήλη.



Χρωμοσωματικές ανωμαλίες

Κατά τα τελευταία έτη έχει παρατηρηθεί ότι 10 - 12% των ανδρών με πρόβλημα υπογονιμότητας είναι φορείς μιας χρωμοσωματικής ανωμαλίας.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους επηρεάζουν τη γονιμότητα είναι:

- 1) Δημιουργία δυσγενετικών όρχεων - αζωοσπερμία (σύνδρομο Klinefelter),
- 2) Βλάβη στην σπερματογένεση: βαριά Ο.Τ.Α. (ολιγο-ασθενο-τερατοσπερμία), αζωοσπερμία ή παραγωγή παθολογικών σπερματοζωαρίων που διατηρούν την ικανότητα προς γονιμοποίηση, δρουν όμως καταστρεπτικά στην εξέλιξη του ζυγώτη ή του εμβρύου με αποτέλεσμα την αποβολή του.



Διαταραχές του σπέρματος - Χρωμοσωματικές ανωμαλίες

- ✓ Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες αναφέρονται στην κατάσταση όπου το σπέρμα φέρει περισσότερα ή λιγότερα χρωμοσώματα από τα φυσιολογικά 23 χρωμοσώματα (ανεupλοειδία). Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες αναφέρονται στην κατάσταση όπου ο άνδρας φέρει (φορέας) μια ισοζυγισμένη χρωμοσωμική ανακατάταξη στον καρυότυπό του.
- ✓ Ο φορέας μιας ισοζυγισμένης δομικής χρωμοσωμικής ανακατάταξης παράγει φυσιολογικούς καθώς και διάφορους γενετικά ανισόζυγους γαμέτες (σπερματοζώαρια) που εάν γονιμοποιήσουν ένα ωάριο θα δημιουργηθεί ένα χρωμοσωματικά ανώμαλο έμβρυο με περίσσεια ή/και απώλεια γενετικού υλικού.
- ✓ Τόσο οι αριθμητικές όσο και οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορεί να προκαλέσουν μία ανώμαλη κατάσταση στο έμβρυο οδηγώντας σε εμβρυϊκό θάνατο, αυτόματη αποβολή, ή τη γέννηση βρέφους με συγγενείς ανωμαλίες.



Έλεγχος Μικροελλείψεων στο χρωμόσωμα Y

Μικροελλείψεις του χρωμοσώματος Y αναφέρονται σε 10-15% των ανδρών με ολιγοσπερμία ή αζωοσπερμία. Η μοριακή ανάλυση συμπεριλαμβάνει την περιοχή AZF (Azoospermia Factor Παράγοντας Αζωοσπερμίας) και ειδικότερα τις τρεις περιοχές αυτής – AZFa, AZFb και AZFc λόγω της εμπλοκής τους στο φαινότυπο της υπογονιμότητας.

Έλεγχος ανευπλοειδισμού των χρωμοσωμάτων στο σπέρμα

Εκτελείται με την τεχνική της φθορίζουσας in situ υβριδοποίησης (FISH). Μικρά κομμάτια DNA (ανιχνευτές), δεσμεύονται σε συγκεκριμένες περιοχές των υπό ανάλυση χρωμοσωμάτων (υβριδοποίηση).

Το λιγότερο 500 σπερματοζωάρια εξετάζονται για κάθε ένα χρωμόσωμα για να καθοριστούν οι συχνότητες των αριθμητικών ανωμαλιών (ανευπλοειδιών). Τα φυσιολογικά γόνιμα άτομα παρουσιάζουν ένα ποσοστό ανευπλοειδισμού της τάξεως του 2-4% στο σπέρμα, ενώ σε σοβαρές περιπτώσεις υπογονιμότητας τα ποσοστά αυτά ξεπερνούν το 27%. Οποιαδήποτε αύξηση του ανευπλοειδισμού στο σπέρμα συμβάλλει στην υπογονιμότητα.



Το DNA του σπέρματος

- Η αξιολόγηση των βλαβών στο DNA του σπέρματος μας βοηθά να αποφασίσουμε την καλύτερη επιλογή της θεραπείας [με Σπερματέφχυση (IUI), Εξωσωματική Γονιμοποίηση (IVF) ή Ενδοωαριακή Έγχυση Σπερματοζωαρίου (ICSI)].
- Μελέτες έχουν δείξει ότι έκθεση σε τοξικούς ή οξειδωτικούς παράγοντες αυξάνουν τον αριθμό των σπερματοζωαρίων που φέρουν σπασίματα στο DNA τους.
- Τα βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η ανάλυση SDFΑ είναι απαραίτητη πριν την επιλογή θεραπείας υπογονιμότητας.
- Ο δείκτης SDFΑ μας βοηθά να προβλέψουμε το ποσοστό επιτυχίας της κάθε μεθόδου.



Έλεγχος της απόπτωσης στο σπέρμα Sperm DNA Fragmentation Assay (SDFA)

Η απόπτωση είναι μία φυσιολογική διαδικασία κυτταρικού θανάτου. Η διαδικασία της απόπτωσης περιλαμβάνει διάφορα στάδια όπως τη συμπύκνωση της χρωματίνης, τον κατακερματισμό του πυρηνικού DNA, τη συρρίκνωση του κυττάρου και τελικά το σπάσιμο ολόκληρου του κυττάρου.

Αν και θεωρείται ένας μηχανισμός για τη διασφάλιση της επιλογής σπερματικών κυττάρων με φυσιολογικό γενετικό υλικό (DNA), μερικές φορές σπέρματα που έχουν αρχίσει τη διαδικασία της απόπτωσης και φέρουν βλάβες στο DNA χωρίς να έχουν όμως πλήρως καταστραφεί, καταφέρνουν να γονιμοποιήσουν ένα ωάριο ειδικά όταν πραγματοποιείται μικρογονιμοποίηση (ICSI).

Όλα τα δεδομένα δείχνουν ότι αυξημένα ποσοστά απόπτωσης στο σπέρμα κατά τη διάρκεια εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) συνδέονται με κακή μορφολογία των εμβρύων στα αρχικά στάδια ανάπτυξης, αποτυχία εξέλιξης στο στάδιο της βλαστοκύστης και τελικά μειωμένο ποσοστό εγκυμοσύνης.

Αρχή της μεθόδου: Η μέθοδος ανιχνεύει βλάβες στο DNA (σπασίματα) σημαίνοντας τις με φθορισμό. Κάθε σπερματοζωάριο που φέρει βλάβες, και επομένως φθορίζει, ανιχνεύεται σε αναλυτή Κυτταρομετρίας Ροής (Flow Cytometry). Όταν το ποσοστό των σπερματοζωαρίων που φέρουν βλάβες στο DNA είναι αυξημένο τότε το σπέρμα θεωρείται υπογόνιμο.



ΤΙ ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΚΕΡΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ DNA?

1. έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους, τοξίνες ή χημικές ουσίες
2. κάπνισμα
3. προχωρημένη ηλικία
4. λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος
5. έντονο σωματικό στρες
6. κίρσοκήλη
7. χρόνιες ασθένειες (διαβήτης, καρκίνος)
8. φάρμακα (κορτιζόνη-αντικαταθλιπτικά)
9. χρήση ναρκωτικών ουσιών



ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΚΑΤΑΚΕΡΜΑΤΙΣΜΟΥ DNA

1. THE SPERM CHROMATIN STRUCTURE ASSAY (SCSA) ή ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ : ένα test επιλογής κυττάρων φθορισμού που μετρά την επιδεκτικότητα του DNA σπέρματος σε αναδόμησή του μετά από έκθεση σε θερμότητα ή όξινες συνθήκες. Μια δυνατότητα του SCSA είναι η ικανότητά του να μετρήσει μεγάλους αριθμούς κυττάρων ταχέως. Αυτό δίνει ισχυρή στατιστική ισχύ. Μετρά μόνο μονόκλινα θραύσματα. Δεν μπορεί να ανιχνεύσει με ασφάλεια DFI <30%.

2. TUNEL : Η δοκιμασία αυτή ανιχνεύει «θραύσματα» (ελεύθερα άκρα του DNA), με την ενσωμάτωση σημασμένων με φθορισμό νουκλεοτιδίων. Αυτό επιτρέπει την ανίχνευση της βλάβης στη μονή και στη διπλή έλικα. Τα κύτταρα μπορούν να αξιολογηθούν είτε μικροσκοπικά, είτε με κυτταρομετρία ροής. Ένα μειονέκτημα της ανάλυσης είναι τα πολλά διαφορετικά πρωτόκολλα, που κάνουν σχεδόν αδύνατη τη σύγκριση των αποτελεσμάτων μεταξύ των εργαστηρίων .

3. COMETASSAY : Σε αντίθεση με τις άλλες μεθόδους, ποσοτικοποιεί την πραγματική βλάβη του DNA ανά σπερματοζώαριο. Δεδομένου ότι η μάζα των θραυσμάτων DNA ρέουν έξω από το κεφάλι του αδιάσπαστου DNA, μετά από χρώση και ηλεκτροφόρηση μοιάζουν με μια ουρά «ουράνιου κομήτη», εξ ου και το όνομα της μεθόδου. Μπορεί να μετρήσει θραύσματα και στη μονή και στη διπλή έλικα. Το μεγάλο πλεονέκτημά της είναι ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολύ μικρό αριθμό σπερματοζωαρίων, ακόμη δε και για ένα μόνο κύτταρο.

4. HALOSPERM ή τεστ διασποράς της χρωματίνης των σπερματοζωαρίων



DNA FRAGMENTATION (ή Δείκτης Κατάτμησης του DNA)

Υψηλός δείκτης κατάτμησης DNA (DFI >30%) ευθύνεται για:

- επαναλαμβανόμενες αποβολές
- χαμηλό ποσοστό γονιμοποίησης και μεγάλο ποσοστό αποβολών σε προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης
- χαμηλή ποιότητα των εμβρύων
- αποτυχία εμφύτευσης του εμβρύου στη μήτρα



Οξειδωτικό Στρες (ORP)

- Το οξειδωτικό στρες φαίνεται να είναι ο «κρυφός» εχθρός για το σπέρμα.
- Περίπου το **80% των αιτιών της ανδρικής υπογονιμότητας** είναι συνδεδεμένο με το οξειδωτικό στρες το οποίο επηρεάζει το ποσοστό κατακερματισμού του DNA.
- Οξειδωτικό στρες ονομάζουμε **την διαταραχή στην ισορροπία των ελεύθερων ριζών οξυγόνου στο σπέρμα.**
- Φυσιολογικά, παράγονται μικρές ποσότητες οι οποίες είναι απαραίτητες για την λειτουργία των σπερματοζωαρίων ωστόσο αυτές πρέπει να εξουδετερώνονται και να απομακρύνονται.
- Το **κάπνισμα**, η **κακή διατροφή**, η **παχυσαρκία**, η **παρατεταμένη σεξουαλική αποχή**, η **υπερβολική άσκηση** καθώς και το ιατρικό ιστορικό (**κίρσοκήλη, τραυματισμός ή κακοήθεια όρχεων**) είναι οι παράγοντες που οδηγούν σε δραματική αύξηση αυτών των ελεύθερων ριζών στο σπέρμα και δημιουργείται έτσι αυτή η ανισσοροπία.



Μέτρηση Οξειδωτικού Στρες (ORP)

- Η μέτρηση του οξειδωτικού στρες είναι ένας δείκτης της ικανότητας του σπέρματος να απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου.
- Νέες τεχνολογίες, όπως είναι το MiOXSYS Analyzer, που είναι πλέον διαθέσιμο, επιτρέπουν την γρήγορη και ακριβή μέτρηση σε πραγματικό χρόνο του οξειδωτικού στρες σε δείγματα σπέρματος.
- Η μέτρηση αυτή μπορεί να γίνει μετά από 2-3 ημέρες αποχή και σε συνδυασμό με την απλή εξέταση σπερμοδιαγράμματος.



MiOXSYS Analyzer test

Το τεστ οξείδωσης με το MiOXSYS Analyzer συνίσταται ιδιαιτέρως σε:

- ζευγάρια με ιστορικό επαναλαμβανόμενων αποβολών ή αποτυχημένων προσπαθειών υποβοηθούμενης αναπαραγωγής
- ζευγάρια που αντιμετωπίζουν ιδιοπαθή ανδρική υπογονιμότητα
- άντρες με λοιμώξεις του αναπαραγωγικού συστήματος (π.χ. προστατίτιδα)
- άντρες με επιβαρυντικό τρόπο ζωής (π.χ. κάπνισμα, παχυσαρκία, έλλειψη ή υπερβολική άσκηση, κτλ)



Αντισπερματικά αντισωμάτα

Αίτια δημιουργίας αντισπερματικών αντισωμάτων είναι:

1. Απόφραξη των εκφορητικών οδών του σπέρματος
2. Απολίνωση - διατομή των σπερματικών πόρων
3. Φλεγμονή των επικουρικών γεννητικών αδένων
4. Τραύματα όρχεων, κρυψορχία
5. Ανασπώμενοι όρχεις σε άτομα μεγάλης ηλικίας

Ο ρόλος των αντισπερματικών αντισωμάτων στην υπογονιμότητα των αντρών είναι υπό συζήτηση, αφού κανείς δεν είναι σίγουρος πόσο συχνό ή πόσο σοβαρό είναι το πρόβλημα.

Η παρουσία αυτών των αντισωμάτων μπορεί να εξεταστεί στο αίμα και των δυο συντρόφων, στην τραχηλική βλέννα και στο σπερματικό υγρό. Υπάρχει μικρή συσχέτιση μεταξύ των κυκλοφορούντων στο αίμα αντισωμάτων και των αντισωμάτων που δεσμεύουν τα σπερματοζωάρια στο σπέρμα.



Φλεγμονές της γεννητικής οδού και των επικουρικών αδένων

- Όλα τα μέρη της γεννητικής οδού μπορεί να προσβληθούν από μικροβιακή λοίμωξη, ο προστάτης είναι όμως ο αδένας που συμμετέχει σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις και που είναι πιο δύσκολο να αντιμετωπιστεί η λοίμωξή του ριζικά.
- Γενικά στις **λοιμώξεις** της γεννητικής οδού χορηγούμε αντιβιοτικά ανάλογα με το μικρόβιο που ανευρίσκεται στις καλλιέργειες ούρων και ουρηθρικού εκκρίματος πριν και μετά από μαλάξεις προστάτου και βάσει του αντιβιογράμματος που προκύπτει από αυτές (δοκιμασία 4 ποτηριών, κατά Stamey-Meares,).
- Συγκεκριμένα όμως ο προστάτης έχει μία **ιδιαίτερη αιμάτωση**, λόγω της οποίας δημιουργείται ένας **φραγμός** μεταξύ του αίματος και του αδένα, που δεν επιτρέπει σε όλα τα κοινά αντιβιοτικά να εισχωρήσουν σε αυτόν.
- Τα φάρμακα που διαπερνούν αυτόν το φραγμό, είναι **η Δοξυκυκλίνη, η ερυθρομυκίνη και τα νεότερα μακρολίδια (αζιθρομυκίνη, ροξυθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη), οι αμινογλυκοσίδες που όμως υπάρχουν μόνο σε ενέσιμη μορφή και τέλος οι κινολόνες (με κύριους εκπροσώπους τους σιπροφλοξασίνη, οφλοξασίνη, λεβοφλοξασίνη, μοξιφλοξασίνη, προυλιφλοξασίνη)** που είναι και τα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα φάρμακα για την αντιμετώπιση των λοιμώξεων του ουροποιογεννητικού συστήματος.
- Θα πρέπει να σημειώσουμε ότι η θεραπεία των λοιμώξεων αυτών είναι **μακρά σε διάρκεια** και απαιτεί για να επιτύχει υπομονή από την πλευρά του ασθενούς και πλήρη συμμόρφωση με τις οδηγίες του θεράποντος γιατρού.



Θεραπεία της χρόνιας βακτηριακής προστατίτιδας

- Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το ποσοστό ίασεως με τις κινολόνες κυμαίνεται από 55% έως και 100%.
- Με τα υπόλοιπα αντιβιοτικά η θεραπεία είναι λιγότερο επιτυχής.
- Στις περισσότερες μελέτες τα χαμηλά ποσοστά ίασεως οφειλόταν στην επαναλοίμωξη από Γκραμ-θετικούς κόκκους ή ψευδομονάδα.
- Για τους Γκραμ-θετικούς κόκκους (εντερόκοκκοι, σταφυλόκοκκοι και αναερόβια) συνιστώνται οι νέες κινολόνες όπως η μοξιφλοξασίνη (Avelox, Octegra) ή και τα παραδοσιακά αντιβιοτικά, όπως ο συνδυασμός αμοξικιλίνη/κλαβουλανικό οξύ (Augmentin) και η κλινδαμυκίνη.
- Η θεραπεία της ψευδομονάδας παραμένει η δυσκολότερη και η σιπροφλοξασίνη θεωρείται το ακόμη το ισχυρότερο αντιβιοτικό από το στόμα.



Θεραπεία Ανδρικής Υπογονιμότητας Ανοσολογικής Αιτιολογίας

Όταν υπάρχουν ενδείξεις υπογονιμότητας ανοσολογικής αιτιολογίας, με ή χωρίς την παρουσία αντισωμάτων, ή ανοσολογικής αρχής ασυμβατότητα σπέρματος και τραχηλικών και κολπικών εκκρίσεων, θα πρέπει το ζευγάρι να παραπέμπεται σε ειδικό ανοσολόγο, καθώς οι εμπειρικές θεραπείες με **κορτικοειδή** που εφαρμόστηκαν κατά το παρελθόν, απεδείχθησαν αναποτελεσματικές και με αρκετές παρενέργειες.



Θεραπεία ενδοκρινικών διαταραχών

- Στις ορμονικές διαταραχές, περιλαμβάνονται κάποιες περιπτώσεις που επέρχεται μια ανισορροπία μεταξύ των ορμονών τόσο του φύλου, όσο και των **θυρεοειδικών ορμονών**, ενώ δεν θα πρέπει να μας διαφεύγει ο έλεγχος του σακχάρου, καθώς μπορεί πίσω από μια υπογονιμότητα να κρύβεται ένας **υποκλινικός σακχαρώδης διαβήτης**.
- Η ενδοκρινική κατάσταση υπογονιμότητας που θεραπεύεται με βεβαιότητα είναι ο **υπογοναδοτροπικός υπογοναδισμός**, όπου η σπερματογένεση αποκαθίσταται μετά από θεραπεία αρκετών, (6-24) μηνών, με **γωναδοτροπίνες**.
- Στις περιπτώσεις που οι ενδοκρινικές διαταραχές οφείλονται σε κάποια χρωμοσωμική ανωμαλία στα πλαίσια κάποιου συνδρόμου, όπως στο σύνδρομο Klinefelter, πρέπει οπωσδήποτε να συνεργαζόμαστε με Γενετιστή, ο οποίος θα κάνει και τον **προεμφυτευτικό διαγνωστικό χρωμοσωμικό έλεγχο**, για την αποφυγή γέννησης παιδιών με το ίδιο σύνδρομο.



Εμπειρική θεραπεία ιδιοπαθούς ολιγοασθενοτερατοσπερμίας

- Στην περίπτωση αυτή γίνεται εμπειρική θεραπεία με διάφορα θεραπευτικά σχήματα, με πτωχά όμως συνήθως αποτελέσματα.
- Ευεργετική επίδραση στη σπερματογένεση των **ιχνοστοιχείων Ψευδαργύρου και Σεληνίου, σε συνδυασμό με τα αμινοξέα L-Αργινίνη, L-Καρνιτίνη και τις βιταμίνες E και B6.**
- Πολύ συχνά εφαρμόζονται ως εμπειρική θεραπεία η αγωγή με **αντιοιστρογόνα (Ταμοξιφαίνη)** σε συνδυασμό με **αντιοξειδωτικά (βιταμίνη E) και L-Καρνιτίνη**, παρότι έχουν αμφίβολη αποτελεσματικότητα, αφού φαίνεται να μην παρουσιάζουν επιβλαβείς παρενέργειες.
- Ένα άλλο εμπειρικό σχήμα αφορά τη χορήγηση **Τομοξιφαίνης** με **Ενδεκονοϊκή Τεστοστερόνη.**
- Πέραν αυτών, συνιστώνται στον υπογόνιμο άνδρα από **διατροφικής πλευράς**, η κατανάλωση οστρακοειδών, μαύρου πολύσπορου ψωμιού ολικής άλεσης, ξηρών καρπών, βασιλικού πολτού, ακτινιδίων και φυσικών χυμών, ενώ τέλος συνιστάται επί παχυσαρκίας η **απώλεια βάρους** και βεβαίως η **διακοπή του καπνίσματος** και η **λογική κατανάλωση οινοπνευματωδών** ποτών.



Θεραπεία με αντιοξειδωτικές ουσίες

Η Βιταμίνη E: Βασικό αντιοξειδωτικό το οποίο δρα στις μεμβράνες. Υποστηρίζει την κινητικότητα του σπέρματος, την αύξηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων, και μειώνει την υπεροξειδωση των λιπιδίων, αυξάνοντας παράλληλα τη βιωσιμότητα.

Η Βιταμίνη C: Προστατεύει το σπέρμα από τις ελεύθερες ρίζες και το οξειδωτικό στρες. Συμβάλλει στην ανακύκλωση της βιταμίνη E, , εμποδίζει τη μείωση της κινητικότητας του σπέρματος.

L-καρνιτίνη & L-αργινίνη: Αμινοξέα του μεταβολισμού της ενέργειας του σπερματοζωαρίου και προσφέρει αντιοξειδωτική δραστηριότητα. Έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει πολλές παραμέτρους του σπέρματος, συμπεριλαμβανομένων τη συγκέντρωση σπέρματος, κινητικότητα και μορφολογία.

Η Βιταμίνη A: Πρόκειται για μια λιποδιαλυτή βιταμίνη και αντιοξειδωτικό που παίζει σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση των ζημιών που προκλήθηκαν από το περιβάλλον και τη γήρανση – και στην πρόληψη κυτταρική βλάβη λόγω της οξείδωσης των ελευθέρων ριζών. Οι μελέτες δείχνουν βιταμίνη A υποστηρίζει την κινητικότητα του σπέρματος, ιδιαίτερα σε συνεννόηση με τα άλλα συστατικά που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Σελήνιο: Μειώνει τις οξειδωτικές βλάβες από τις ελεύθερες ρίζες και μπορεί να βελτιώσει την κινητικότητα του σπέρματος και τη συγκέντρωση.

Grapeseed (Εκχύλισμα από κουκούτσια σταφυλιού): Αυτά τα ζωτικής σημασίας αντιοξειδωτικά προστατεύουν τα κύτταρα από ελεύθερες ρίζες / οξειδωτική βλάβη. είναι πλούσιο σε πολυφαινόλες, ένα συστατικό πλούσιο σε αντιοξειδωτικά που οι μελέτες δείχνουν να είναι πιο ισχυρά αντιοξειδωτικά από τη βιταμίνη C και E και η βήτα-καροτίνη.

Ψευδάργυρος: Ο ψευδάργυρος αντιοξειδωτικό είναι ένα μέταλλο που παρέχει αντιοξειδωτική λειτουργία. Ο ψευδάργυρος έχει αποδειχθεί ότι έχει θετική επίδραση στην μορφολογία του σπέρματος, κινητικότητα του σπέρματος και τον μεταβολισμό της τεστοστερόνης.



Τα αποτελέσματα υποστηρίζουν ότι υπάρχει σημαντική αύξηση σε γεννήσεις και στα ποσοστά εγκυμοσύνης με τη χρήση των αντιοξειδωτικών από τον άνδρα. Περαιτέρω έρευνα συστήνεται για να επιβεβαιώσει αυτά τα συμπεράσματα.



Θεραπεία Κιρσοκήλης

- Η θεραπεία γίνεται με χειρουργική απολίνωση, ή με εμβολισμό των σπερματικών φλεβών.
- Η αποκατάσταση της κιρσοκήλης με προσπέλαση υποβουβωνική, και μάλιστα μικροχειρουργικά, με τη χρήση χειρουργικού μικροσκοπίου, για την αποφυγή τραυματισμού της ορχικής αρτηρίας και των λεμφαγγείων που οδηγούσαν με τις κλασσικές μεθόδους σε περισσότερες επιπλοκές.
- Ο εμβολισμός της σπερματικής φλέβας είναι μια ακτινολογική επεμβατική μέθοδος με κυριότερο μειονέκτημα το υψηλό ποσοστό υποτροπής της κιρσοκήλης, ενώ τελευταία χρησιμοποιούνται και κάποιες μέθοδοι σκληροθεραπείας με έγχυση ειδικών ουσιών στις διατεταμένες φλέβες, πάλι μέσω μιας υποβουβωνικής τομής (μέθοδοι Tauber και Colρί).
- Η διόρθωση της κιρσοκήλης όμως θα πρέπει να σημειωθεί ότι πρέπει να γίνεται ακολουθώντας συγκεκριμένες ενδείξεις και όχι σε όλες τις περιπτώσεις, ενώ δεν περιμένει κανείς όφελος όταν γίνεται σε ηλικία μεγαλύτερη των 30 ετών (Ευρωπαϊκή Ουρολογική Ένωση), όπως:
 - α. Σε εφήβους ή νέους άνδρες όταν υπάρχει καθυστέρηση στην ανάπτυξη, ή ατροφία του όρχεος σύστοιχα στην κιρσοκήλη.*
 - β. Σε νέους υπογόνιμους άνδρες με παθολογικό σπερμοδιάγραμμα, όταν δεν προκύπτει από τον έλεγχο κάποια άλλη αιτία υπογονιμότητας, και αφού ενημερωθούν ότι δεν είναι 100% βέβαιη η βελτίωση των παραμέτρων του σπέρματος και η επακόλουθη εγκυμοσύνη με την διόρθωση της κιρσοκήλης.*
 - γ. Όταν υπάρχει δυσμορφία στο όσχεο λόγω ευμεγέθους κιρσοκήλης, ή όταν αυτή δημιουργεί (σπάνια βέβαια), ενοχλητικά συμπτώματα.*
 - δ. Δεν συνιστάται η χειρουργική αποκατάσταση της κιρσοκήλης σε άνδρες με ενδείξεις πρωτοπαθούς ορχικής ανεπάρκειας, σε υποκλινική κιρσοκήλη και σε μεγαλύτερες ηλικίες.*



Τελευταίες μελέτες από τον καθηγητή W.Schill θέτουν κάποιες επιπλέον ενδείξεις για την αντιμετώπιση της κιρσοκήλης: όταν υπάρχουν > 8% σπερματοζωάρια με ανωμαλίες αυχένος, ή > 5% άωρες μορφές, ή > 5% σπερματοζωάρια με περιελίξεις ουράς.



Θεραπεία ιδιοπαθούς υπογονιμότητας

- Κιτρική κλομιφένη
- Κιτρική ταμοξιφένη
- Τεστοστερόνη
- Αντιοξειδωτικές ουσίες
- Βιταμίνες
- Σπερματέγχυση (IUI)
- Ενδοωαριακή έγχυση σπερματοζωαρίου (ICSI)



ΣΠΕΡΜΑΤΕΓΧΥΣΗ

Ενδείξεις και Προϋποθέσεις

Ενδείξεις σπερματέγχυσης

1. Σε αδυναμία κολπικής εκσπερμάτισης.
2. Σε ήπια και μέτρια ολιγοασθενοσπερμία (μειωμένο αριθμό σπερματοζωαρίων, χαμηλή κινητικότητα).
3. Σε διαταραχές της ωοθυλακιορρηξίας (π.χ. σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών).
4. Σε ανεξήγητη υπογονιμότητα.
5. Σε ενδομητρίωση.
6. Σε παθολογία του τραχήλου της μήτρας (π.χ. κωνοειδής εκτομή τραχήλου).
7. Κρυοσυντήρηση σπέρματος.
8. Σπέρμα δότη σε καταστάσεις αζωοσπερμίας.

Απαραίτητες προϋποθέσεις

1. Βασική προϋπόθεση για να πραγματοποιηθεί σπερματέγχυση είναι η βατότητα των σαλπίγγων της γυναίκας, η οποία καθορίζεται με την υστεροσαλπιγγογραφία ή με τη λαπαροσκόπηση.
2. Απαραίτητο είναι επίσης οι τιμές των ορμονών FSH και E2 να διατηρούνται σε φυσιολογικά επίπεδα.
3. Το κατώτατο όριο κινητών σπερματοζωαρίων μετά την επεξεργασία θα πρέπει να είναι συνολικά μεγαλύτερο των 2.000.000. Σπέρματα με μικρότερους αριθμούς έχουν χαμηλότερα ποσοστά επιτυχίας, αν και υπάρχει καταγεγραμμένη κύηση σε σπέρμα με μόλις 100.000 συνολικό αριθμό κινητών σπερματοζωαρίων.



Σπερματέγχυση ειδικές ομάδες υπογονιμότητας

σπερματέγχυση για ανδρικό παράγοντα

- βασικό κριτήριο για IUI
 - 2-5 εκατομμύρια κινητά σπερματοζώαρια μετά την επεξεργασία
- περισσότερες κυήσεις σε σχέση με σπερματεγχύσεις TI (Tubal Insemination)
- σύγκριση IUI σε κύκλο διέγερσης σε σχέση με φυσικό κύκλο
 - συγκρίσιμα ποσοστά γεννήσεων OR 1.8, 95% CI 0.98 to 3.3)

σπερματέγχυση για ενδομητρίωση

- αντικρουόμενα αποτελέσματα: IUI με διέγερση είχε τα ίδια αποτελέσματα με συντηρητική αγωγή (RR 2.3 , 95% CI 1.1 to 4.6)
- οι προσπάθειες IUI να μην υπερβαίνουν τις τρεις για να μην χάνεται πολύτιμος χρόνος

σπερματέγχυση για ανεξήγητη υπογονιμότητα

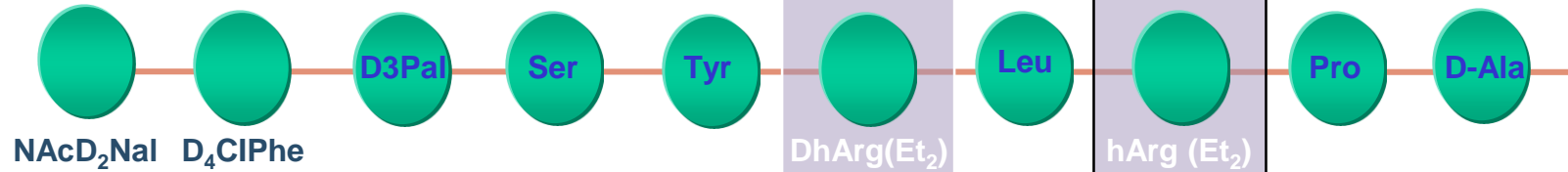
- σύγκριση IUI με διέγερση και IUI σε φυσικό κύκλο είχε ποσοστά κύησης σημαντικά υψηλότερα σε IUI σε κύκλο διέγερσης (OR 2.33, 95% CI 1.46 to 3.71)
- σημαντικά περισσότερες κυήσεις με recFSH



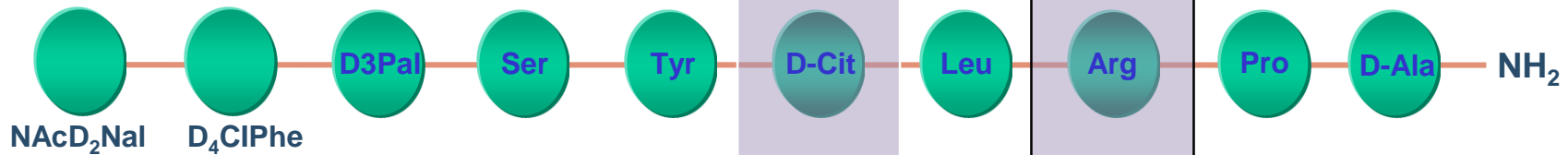
GnRH ανταγωνιστές

GnRH ανταγωνιστές: ανταγωνιστική πρόσδεση στον υποδοχέα GnRH και καταστολή των γοναδοτροπινών

Ganirelix acetate



Cetrorelix acetate



Amino
acid
number

1

2

3

4

5

6

7

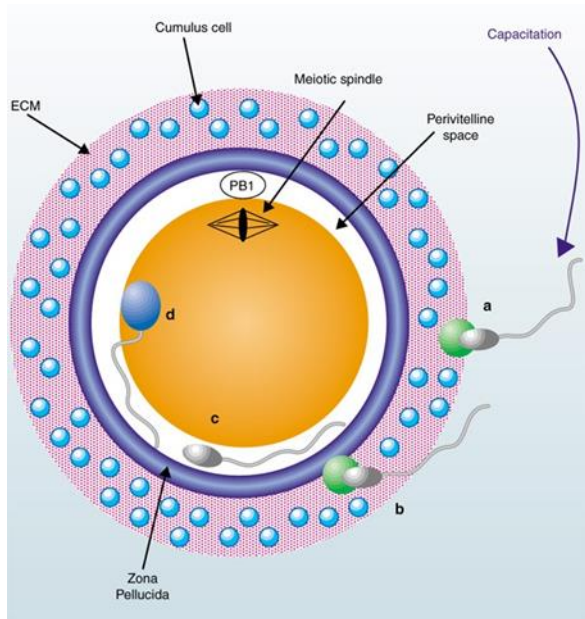
8

9

10



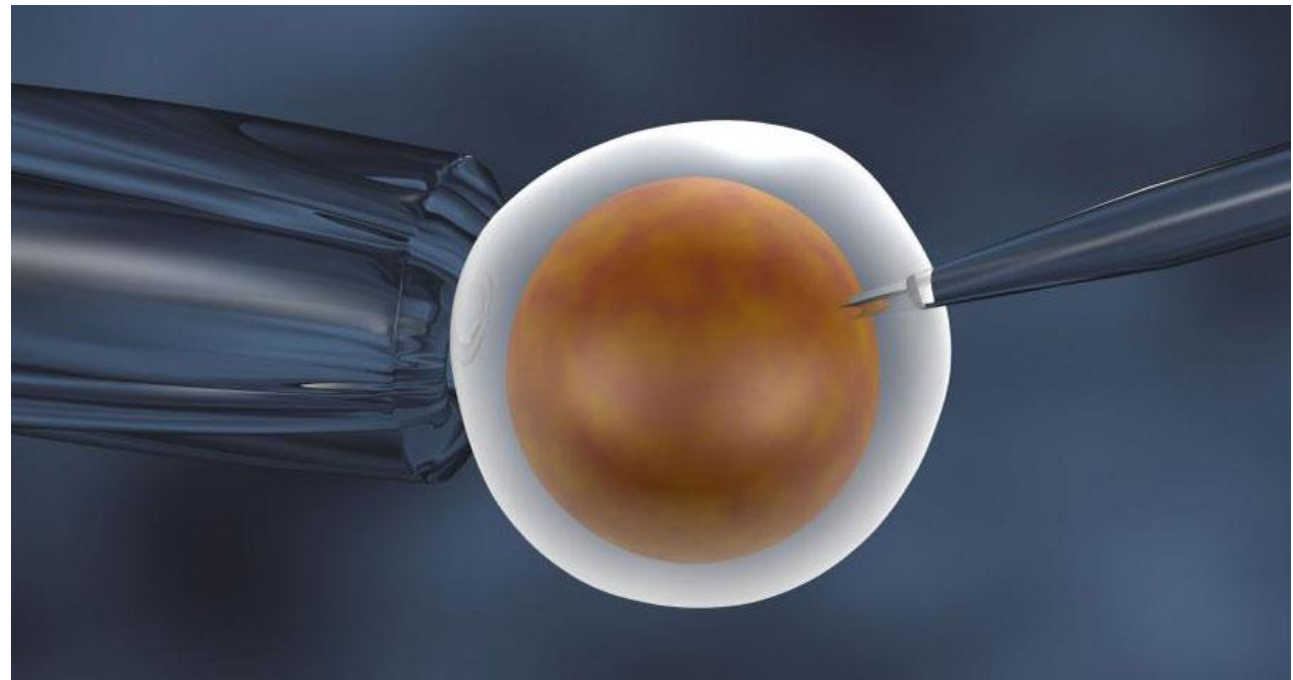
ICSI



- Το **1992** ανακοινώθηκαν οι πρώτες εγκυμοσύνες έπειτα από μικρογονιμοποίηση (Intra Cytoplasmic Sperm Injection, ICSI) με σπέρμα που είχε πολύ φτωχά χαρακτηριστικά. Ο μικρός αριθμός και η χαμηλή ή ανύπαρκτη κινητικότητα των σπερματοζωαρίων δεν αποτελεί πρόβλημα στην ICSI, μια και η γονιμοποίηση δεν εξαρτάται από την ικανότητα των σπερματοζωαρίων να εισχωρήσουν στο ωάριο, αλλά ένα και μόνο σπερματοζωάριο (ύστερα από επεξεργασία) εγχύεται απευθείας στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου.
- Με την ICSI **τα ποσοστά γονιμοποίησης είναι πολύ υψηλά**. Ως αποτέλεσμα η ICSI χρησιμοποιείται παγκοσμίως με μεγάλη επιτυχία για να αντιμετωπίσει την υπογονιμότητα, η οποία οφείλεται σε δυσλειτουργία των όρχεων ή απόφραξη των σπερματοφόρων αγωγών που έχουν αποτέλεσμα σοβαρή oligo-ασθενο-τερατοζωοσπερμία.
- Επίσης μπορεί να αντιμετωπιστεί με επιτυχία και η πλήρης απουσία σπερματοζωαρίων στο σπερματικό υγρό. Σ` αυτές τις περιπτώσεις τα σπερματοζωάρια λαμβάνονται με **βιοψία από τον όρχι** ή την επιδιδυμίδα με ελαφρά χαμηλότερο (ή ισάξιο, σύμφωνα με άλλους ερευνητές) ποσοστό επιτυχίας.



ICSI





Κύριες ενδείξεις για ICSI - I

Γενικά η μέθοδος ICSI χρησιμοποιείται:

- ✓ σε ασθενείς με αποτυχία προηγούμενης γονιμοποίησης ή
- ✓ με αριθμό σπερματοζωαρίων λιγότερο από **500.000**, που δεν επιδέχονται θεραπεία.

- 1. Προβλήματα στην ποιότητα σπέρματος.**
- 2. Δυσλειτουργίες εκσπερμάτωσης.**
- 3. Σπερματοζωάρια από τον όρχι.**



Κύριες ενδείξεις για ICSI - II

Προβλήματα στην ποιότητα σπέρματος:

1. **Ολιγοσπερμία** (αριθμός μικρότερος των $< 20 \times 10^6/\text{ml}$). Ασθενοσπερμία (κινητικότητα μικρότερη του 50% αρίστη και μέτρια).
2. **Τερατοζωοσπερμία** (φυσιολογικές μορφές λιγότερες από 30%) ή και συνδυασμός όλων αυτών των προβλημάτων.
3. Αντισπερμικά αντισώματα.
4. Αποτυχία γονιμοποίησης έπειτα από εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF).



Κύριες ενδείξεις για ICSI - III

Δυσλειτουργίες εκσπερμάτωσης:

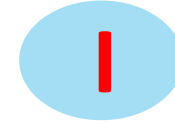
1. Σπέρμα από την επιδιδυμίδα.
2. Συγγενής απλασία του σπερματικού πόρου.
3. Αποτυχημένη αναστόμωση σπερματικού πόρου - επιδιδυμίδας.
4. Αποτυχημένη επαναστόμωση του σπερματικού πόρου.
5. Απόφραξη των εκσπερματικών πόρων.

Σπερματοζωάρια από τον όρχι:

1. Αποτυχία λήψης σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα.
2. Αζωοσπερμία λόγω αναστολής ωρίμανσης σπερματοζωαρίων.
3. Νεκροσπερμία.



Ανδρική υπογονιμότητα & χρωμοσωμικές ανωμαλίες



- Βάσιμα ερωτηματικά προκαλούνται από τη συσχέτιση ανδρικής υπογονιμότητας και χρωμοσωμικών ανωμαλιών.
- Μία πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι το ποσοστό των χρωμοσωμικών ανωμαλιών σε άνδρες με κανονικές παραμέτρους σπέρματος ήταν **2,2%**. Σε ασθενείς με **ολιγοσπερμία 5,1%**, με **αζωοσπερμία 14,6%** και με **μη-αποφρακτική αζωοσπερμία 20,3%**.



Ανδρική υπογονιμότητα & χρωμοσωμικές ανωμαλίες



- Παρότι είναι γνωστό ότι η γονιμοποίηση από σπερματοζωάρια με χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι δυνατή, δεν είναι γνωστό εάν το ποσοστό των ανώμαλων σπερματοζωαρίων που πετυχαίνουν γονιμοποίηση είναι το ίδιο ή μειωμένο σε σχέση με τα φυσιολογικά.
- Επίσης είναι άγνωστος ο αριθμός των ζυγών με ανευπλοειδισμό μη-συμβατό με τη ζωή, που αποβάλλονται στην αρχή της κύησης.
- Τα δεδομένα της Martin δείχνουν ότι ένας μη-φυσιολογικός καρυότυπος (από ανάλυση περιφερικού αίματος) δεν συμβαδίζει πάντα με ανώμαλο γενότυπο των σπερματοζωαρίων: άντρες με γενετική σύσταση 47XYY παράγουν χρωμοσωμικά φυσιολογικά σπερματοζωάρια.



Αζωοσπερμία

- Αζωοσπερμία ονομάζουμε την απουσία σπερματοζωαρίων από το σπέρμα.
- Η αζωοσπερμία διακρίνεται σε αποφρακτική και μη αποφρακτική.
- Η λήψη σπέρματος σε περιπτώσεις ανδρών με αποφρακτική και μη αποφρακτική αζωοσπερμία γίνεται με μικροχειρουργική επέμβαση.
- Στην περίπτωση της αποφρακτικής αζωοσπερμίας η ανεύρεση σπερματοζωαρίων στον όρχη και την επιδυιδιμίδα είναι οπωσδήποτε επιτυχής.



Αποφρακτική Αζωοσπερμία

- Στην αποφρακτική αζωοσπερμία υπάρχει κανονική παραγωγή σπερματοζωαρίων από τους όρχεις, αλλά αυτά δεν εμφανίζονται στο σπέρμα μετά την εκσπερμάτιση, λόγω της απόφραξης: οι άνδρες που πάσχουν από αποφρακτική αζωοσπερμία εκσπερματώνουν φυσιολογικά, αλλά το λαμβανόμενο σπέρμα περιέχει μόνο σπερματικό πλάσμα χωρίς σπερματοζωάρια.
- Η αποφρακτική αιτιολογία, με την ευρεία έννοια, περιλαμβάνει την απόφραξη των εκφορητικών σπερματικών οδών που οφείλεται σε **φλεγμονή ή τραυματισμό, τη συγγενή έλλειψη των σπερματικών πόρων, την εκτομή ή τη διατομή των σπερματικών πόρων** με χειρουργική επέμβαση.



Οι προεκτάσεις στην υπογονιμότητα ...

- Επίσης, συχνά παρατηρείται αυξημένη συχνότητα εμφάνισης αναστροφών ή μεταθέσεων, γεγονός που αυξάνει την πιθανότητα αποβολών ή απόκτησης παιδιών με χρωμοσωμικές ανωμαλίες.
- Όσον αφορά στις **μικροελλείψεις στο χρωμόσωμα Υ**, αυτές συναντώνται σε συχνότητα περίπου **15% των αζωοσπερμικών ανδρών**. Οι αρσενικοί απόγονοι των ανδρών που είναι φορείς μικροελλείψεων θα τις κληρονομήσουν και, συνεπώς, θα είναι πιθανόν και οι ίδιοι υπογόνιμοι.
- Όσον αφορά στις μεταλλάξεις του γονιδίου της κυστικής ίνωσης, περίπου το 25% των αζωοσπερμικών ανδρών με απλασία του σπερματικού πόρου είναι φορείς του γονιδίου.



Μη Αποφρακτική Αζωοσπερμία

- Στη μη αποφρακτική αζωοσπερμία δεν υπάρχει παραγωγή σπερματοζωαρίων από τους όρχεις.
- Η αδυναμία παραγωγής ή η ελάχιστη παραγωγή (σοβαρή oligo-ασθενο-τερατοσπερμία, που πρακτικά είναι πολύ κοντά στην αζωοσπερμία) υποδηλώνει ορχική ανεπάρκεια.
- Η πάθηση μπορεί να είναι ιδιοπαθής ή να οφείλεται σε κρυφορχία, τραυματισμούς, φλεγμονές, λοιμώδη νοσήματα (όπως παρωτίτιδα σε μεγάλη ηλικία) ακτινοβολία, χημειοθεραπεία, ή χρωμοσωματικές διαταραχές.



Ανεύρεση σπερματοζωαρίων - Βιοψία όρχεων

- Στη μη αποφρακτική αζωοσπερμία η ανεύρεση σπερματοζωαρίων μετά από βιοψία όρχεων (TESE) είναι δύσκολη έως αδύνατη. Ελπίζουμε στην ανεύρεση σπερματοζωαρίων, ειδικά όταν η σπερματογένεση εντοπίζεται μόνον σε μικρές εστίες του ορχικού παρεγχύματος (εστιακή σπερματογένεση).
- Οι πιθανότητες είναι μικρές αλλά υπάρχει περιορισμένος βεβαίως αριθμός κυήσεων. Εάν βεβαίως δεν βρεθούν κινητά σπερματοζωάρια θα πρέπει οπωσδήποτε το ζευγάρι να είναι ενημερωμένο εκ των προτέρων για τις εναλλακτικές δυνατότητες.



Χειρουργικές τεχνικές ανάκτησης σπέρματος στην αζωοσπερμία

1. TESE
2. TESA
3. Microdissections
4. MESA
5. PESA
6. RETA
7. Sperm Aspiration vas deferens
8. Ανοικτή – Διαδερμική λήψη



Βιοψία όρχεως

1. Με εξαίρεση τις περιπτώσεις υπογοναδοτροφικού υπογοναδισμού, για όλες τις άλλες περιπτώσεις αζωοσπερμίας η βιοψία όρχεως παραμένει η παλαιότερη και η πιο ενδεδειγμένη μέθοδος, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν υπάρχουν σπερματοζωάρια ή όχι στους όρχεις.
2. Καμία άλλη τεχνική δεν μπορεί με ακρίβεια να επιβεβαιώσει ή να αποκλείσει την παρουσία σπερματοζωαρίων στους όρχεις
3. Πολλαπλές βιοψίες στην «τυφλή» βιοψία θεωρούνται απαραίτητες αν και έχουν ενοχοποιηθεί για ατροφία του υποκείμενου ήδη δυσλειτουργικού ορχικού ιστού



TESE (TESTICULAR SPERM EXTRACTION)

- Βιοψία όρχεως
- Τοπική ή γενική αναισθησία
- Χειρουργικός χρόνος 15-30 λεπτών.
- Χωρίς επιπλοκές και μπορεί να εφαρμοστεί τόσο σε αποφρακτική αζωοσπερμία (OA) όσο και σε μη αποφρακτική (NOA).





Η αποτελεσματικότητα της TESE

714 Ασθενείς με NOA

40,5% ποσοστό ανεύρεσης ΣΠΖ, 169 κυήσεις και 98 τοκετούς

«TESE-ICSI is a breakthrough in the treatment of infertility due to NOA, with almost 4 out of 10 (37%) couples having ICSI obtaining a delivery. However, unselected candidate NOA patients should be counselled, before undergoing TESE, that only one out of seven men (13.4%) eventually father their genetically own child»

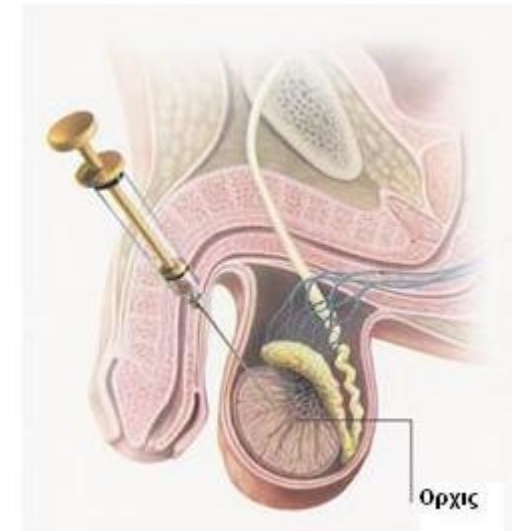
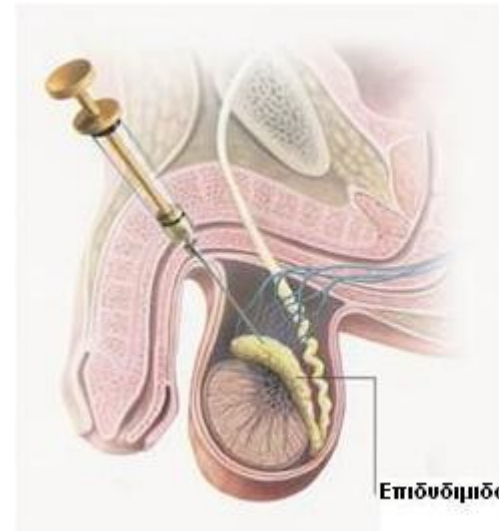
“How successful is TESE-ICSI in couples with non-obstructive azoospermia?”

Tournaye et al 2015 . HUM. REPR



TESA (TESTICULAR SPERM ASPIRATION)

- Παρόμοια με TESE
- Τοπική ή γενική αναισθησία
- Βελόνη 22 gauge ή Tru-Cat
- Ταχύτερη ανάνηψη όμως τυφλή διαδικασία με κίνδυνο δημιουργίας αιματώματος
- Επιπλέον, ο ιστός που ανακτάται με την TESA είναι λιγότερος
- Εφαρμόζεται κυρίως σε OA και σπανίως σε NOA

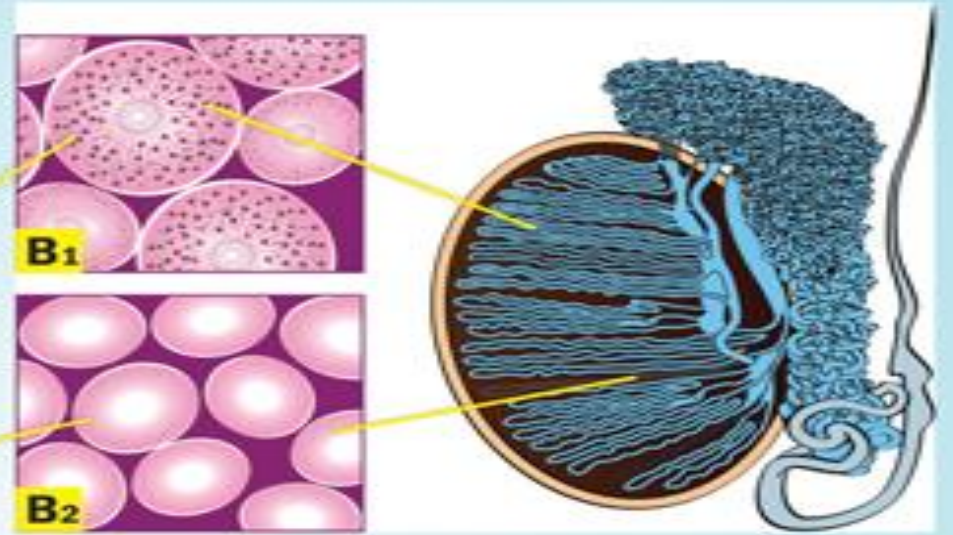
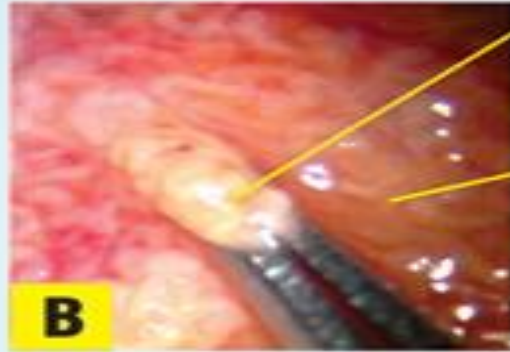
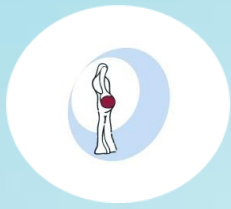




Microdissections (Μικροδιατομές του όρχεως)

Αυτή η τεχνική εφαρμόζεται σε NOA για λήψη σπερματοζωαρίων από τον όρχι. Είναι μία μέθοδος περισσότερο λεπτομερής από την TESE και μπορούμε να πάρουμε λεπτά τμήματα όρχεως 2-3χιλ. ή 1,5mg όγκου. Απαιτεί χειρουργικό μικροσκόπιο και προσεκτική παρατήρηση ώστε να διαπιστώσουμε ποια σωληνάρια διατηρούν σπερματογένεση. Αυτά τα σωληνάρια αναγνωρίζονται οπτικά κάτω από το μικροσκόπιο σε μεγέθυνση X15. Με τη μέθοδο αυτή:

1. Αυξάνεται ο αριθμός των σπερματοζωαρίων ανά βιοψία,
2. Δε χάνεται πολύ ορχικός ιστός,
3. Διευκολύνεται ο βιολόγος επειδή έχει να εξετάσει λιγότερο ιστό,
4. Αποφεύγουμε τα αγγεία μέσα στον όρχι και έτσι ο κίνδυνος καταστροφής άλλων τμημάτων του όρχεως είναι πού μικρός.





MICRO ή απλή TESE?

62 δημοσιεύσεις

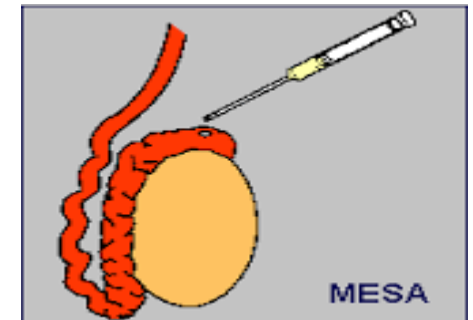
«Ανωτερότητα της MICRO σε σχέση με την απλή σε περιστατικά με MA ή SERTOLI –CELL:
Λιγότερες επιπλοκές σε με την ίδια μέθοδο. Παρά ταύτα πραγματικές τυχαιοποιημένες μελέτες
χρειάζονται για να επιβεβαιώσουν την ανωτερότητα αυτή.»

Andrology. 2014 Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia: a systematic review. Deruyver Y1, Vanderschueren D, Van der Aa F.



MESA (Microscopic Epididymal Sperm Extraction)

- Η MESA έχει εφαρμογή στην ΟΑ.
- Εκτελείται υπό το χειρουργικό μικροσκόπιο ώστε το επιδιδυμικό σωληνάριο να μπορεί να απομονωθεί.
- Χρησιμοποιείται μία μικροπιπέτα για την παρακέντησή του ή διατέμνεται το σωληνάριο και διαβιβάζεται μικρός αγγειοκαθετήρας (24 gauge) δια του οποίου αναρροφάται υγρό της επιδιδυμίδας.
- Το πλεονέκτημα της χρήσης μικροπιπέτας είναι η μη ανάμειξη του υγρού με αίμα (είναι γνωστό ότι το αίμα μειώνει την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων).
- Το μειονέκτημα της μικροπιπέτας είναι ότι χρειάζεται πρόσθετος εξοπλισμός όπως σωληνάκια και αποστειρωμένες μικροπιπέτες, ενώ από την άλλη μεριά χρειάζεται μόνο ένας αγγειοκαθετήρας 24 gauge εφαρμοσμένος σε σύριγγα ινσουλίνης.





PESA (Percutaneous Epididymal Sperm Extraction)

- Τοπική αναισθησία με block του σπερματικού τόνου ή γενική αναισθησία και χρήση λεπτής βελόνας για την αναρρόφηση σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα.
- Εφαρμόζεται μόνο σε ΟΑ.
- 2009-2014 (ΓΕΝΕΣΙΣ ΑΘΗΝΩΝ Α.Ε.)
 - 361 περιστατικά ΟΑ
 - 97% ποσοστό ανεύρεσης σπερματοζωαρίων
 - 85% ποσοστό γονιμοποίησης





IMSI (Intra Cytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection)

- Τα σπερματοζωάρια που θα χρησιμοποιηθούν για να γονιμοποιήσουν τα ωάρια επιλέγονται με ειδικό μικροσκόπιο πολύ υψηλής ανάλυσης.
- Οι εμβρυολόγοι διαλέγουν τα 'καλύτερα' σπερματοζωάρια με βάση συγκεκριμένα μορφολογικά κριτήρια.
- Η καλύτερη μορφολογία πιθανόν να συσχετίζεται με καλύτερη δυναμική για ανάπτυξη καλύτερης ποιότητας εμβρύων και τελικά πιθανά αυξημένο ποσοστό κυήσεων.
- Το IMSI θεωρείται ότι προσφέρει ένα επιπλέον πλεονέκτημα σε σχέση με τη μικρογονιμοποίηση γιατί επιτρέπει τη λεπτομερέστερη επιλογή των σπερματοζωαρίων.
- Αυτό έχει νόημα για ζευγάρια με πολύ **κακή μορφολογία σπέρματος**. Ο εμβρυολόγος μπορεί να χρειαστεί 2-3 ώρες για να επιλέξει τα κατάλληλα σπερματοζωάρια.



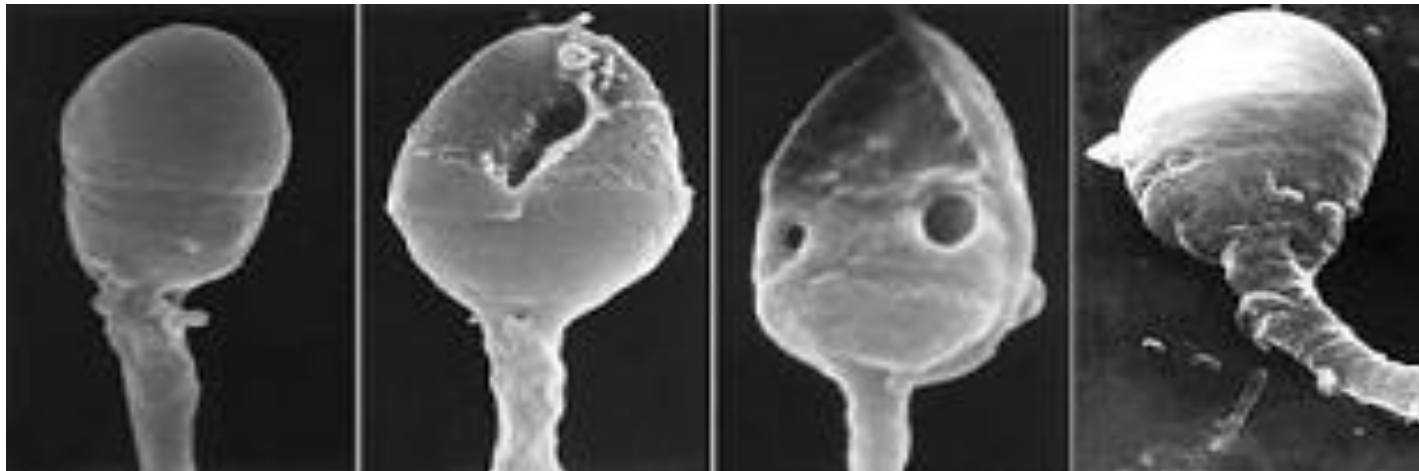
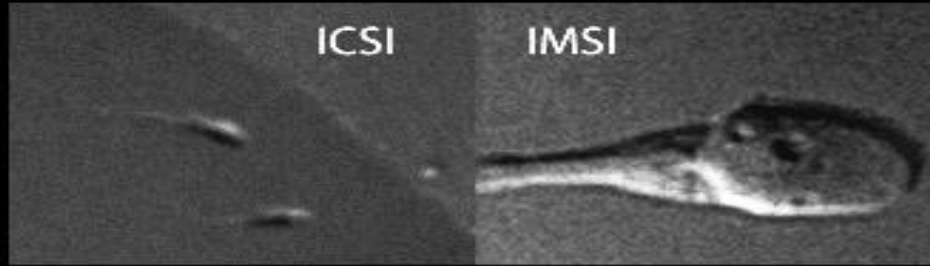
IMSI (Intra Cytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection)

Ενδείξεις για IMSI:

- 1. Σοβαρός ανδρικός παράγοντας**
- 2. Υψηλός δείκτης κατάτμησης DNA >30%**
- 3. Αποτυχία επίτευξης εγκυμοσύνης έχοντας μεταφέρει τουλάχιστον 4 έμβρυα σε προηγούμενες προσπάθειες IVF - ICSI**
- 4. Αποτυχία σχηματισμού βλαστοκύστεων σε προηγούμενες προσπάθειες IVF ή ICSI**



IMSI (Intra Cytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection)





PICSI (Physiological Intracytoplasmic Sperm Injection)

Η τεχνική του **PICSI** είναι μια καινοτόμος μέθοδος και αποτελεί εξέλιξη της τεχνικής της μικρογονιμοποίησης (ICSI). Συνίσταται σε ζευγάρια όταν διαπιστώνονται υψηλά ποσοστά ανδρικής υπογονιμότητας και χρειάζεται να εφαρμοστεί η μικρογονιμοποίηση (ICSI), αλλά επιπλέον έχει διαγνωστεί και **χαμηλό ποσοστό πρόσδεσης σε υαλουρονικό οξύ (HBA test)** ή **υψηλό ποσοστό κατακερματισμού του DNA του σπέρματος (DFI)**.

Κατά τη διάρκεια του ICSI, τα σπερματοζωάρια επιλέγονται βάσει της μορφολογίας και της κινητικότητάς τους. Ωστόσο, πρόκειται για μια οπτική προσέγγιση και δεν αντανακλά σε απόλυτο βαθμό τη λειτουργία του σπέρματος και την ικανότητά του να γονιμοποιεί το ωάριο. Το PICSI μια παραλλαγή ICSI που παρέχει **λειτουργικές δοκιμές για το σπέρμα** προκειμένου να βοηθήσει τον εμβρυολόγο στην επιλογή του βέλτιστου σπερματοζωαρίου που θα χρησιμοποιήσει για την γονιμοποίηση των ωαρίων.

PICSI (Physiological Intracytoplasmic Sperm Injection)

Η χρήση του PICSI βασίζεται στην ιδιότητα που έχουν **μόνο τα ώριμα και χωρίς κατακερματισμό σπερματοζωάρια** να προσκολλώνται σε μία πρωτεΐνη που ονομάζεται υαλουρονικό οξύ. Το ώριμο σπερματοζωάριο φέρει ειδικούς υποδοχείς για να προσκολλάται και να προκαλεί την λύση του υαλουρονικού, διαδικασία που επιτελείται φυσιολογικά κατά την γονιμοποίηση.

Το PICSI μπορεί να είναι ιδιαίτερα χρήσιμο για άνδρες με:

- χαμηλό δείκτη HBA
- υψηλό δείκτη DFI
- προηγούμενες αποτυχημένες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης.
- αδυναμία ανάπτυξης του εμβρύου σε προηγούμενες προσπάθειες.
- κακή μορφολογία των σπερματοζωαρίων.
- μειωμένη κινητικότητα του σπέρματος.
- σπέρμα που έχει ληφθεί με τη μέθοδο TESA ή MESA.



PICSI (Physiological IntraCytoplasmic Sperm Injection)

- το υαλουρονικό είναι το κύριο συστατικό του ωοφόρου δίσκου (Cumulus) που περιβάλλει το ωάριο
- η δυνατότητα πρόσδεσης των σπερματοζωαρίων στο υαλουρονικό είναι ο βιοχημικός δείκτης της ωριμότητας και της ακεραιότητας του DNA
- μόνο ώριμα σπερματοζωάρια με ανεπτυγμένους υποδοχείς για το υαλουρονικό μπορούν να προσδεθούν

Με τη μέθοδο PICSI, πριν να πραγματοποιηθεί η μικρο-γονιμοποίηση, τα σπερματοζωάρια επιλέγονται ως εξής: τοποθετούνται σε ένα ειδικό τρυβλίο ('πιατάκι' εργαστηρίου) με μια ειδική επίστρωση (υαλουρονικό οξύ). Τα σπερματοζωάρια καλύτερης ποιότητας (τα πιο ώριμα) δεσμεύονται πάνω σε αυτή την επίστρωση και επιλέγονται από τους εμβρυολόγους.



Σύμφωνα με τις πρώτες κλινικές μελέτες, το ποσοστό επιτυχίας αυτής της μεθόδου διεθνώς φτάνει το 50%.



HBA (Hyaluronan Binding Assay)

- Το HBA εκτιμά την ωριμότητα του σπέρματος. Αποτελεί μια απλή τεχνική που προτείνεται ως συμπληρωματική του σπερμοδιαγράμματος για την πρόβλεψη της γονιμοποιητικής ικανότητας του σπέρματος. Είναι σχεδιασμένο για να παρέχει εκτίμηση της ποιότητας, της ωρίμανσης και του δυναμικού γονιμοποίησης του σπέρματος.
- Βασίζεται στην αρχή ότι το υαλουρονικό οξύ προσδένεται εκλεκτικά στα ώριμα σπερματοζωάρια που φέρουν **ακέραιο ακρόσωμα** και **φυσιολογική μορφολογία**.
- Το υαλουρονικό βρίσκεται φυσιολογικά στο εξωκυττάριο στρώμα των κοκκώδων κυττάρων που περιβάλλουν το ωάριο. Το στρώμα αυτό αποτελεί ένα φράγμα διαλογής, καθότι επιτρέπει μόνο στα ώριμα σπερματοζωάρια, που φέρουν ειδικούς υποδοχείς, να προσδεθούν και να προκαλέσουν λύση του υαλουρονικού οξέος.
- Με τον τρόπο αυτό καταφέρνουν να φτάνουν και να διατρυπούν την διαφανή ζώνη για να επιτυχθεί η **ακροσωμική αντίδραση** και επακόλουθα η γονιμοποίηση του ωαρίου.

HBA (Hyaluronan Binding Assay)

- Τα σπερματοζωάρια που προσδένονται σε υαλουρονικό οξύ είναι ικανά να αλληλεπιδράσουν με το ωάριο και σχετίζονται με υψηλή ακεραιότητα του γονιδιώματός τους.
- Δείγματα με πρόσδεση **$\geq 80\%$** θεωρούνται πως έχουν **φυσιολογική ωριμότητα** και φυσική λειτουργία ενώ πρόσδεση $<80\%$ υποδηλώνει μειωμένη ωριμότητα και λειτουργία.
- Σε περίπτωση **μη φυσιολογικού αποτελέσματος εξέτασης HBA**, μπορεί να γίνει γονιμοποίηση με χρήση της νέα τεχνικής **PICSI**.

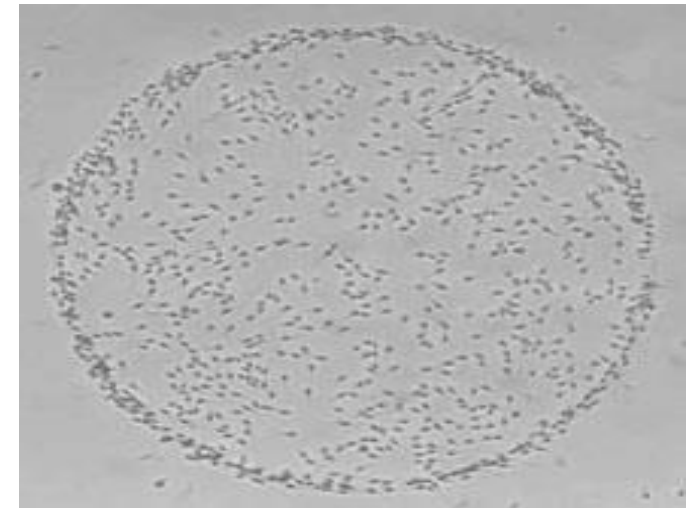
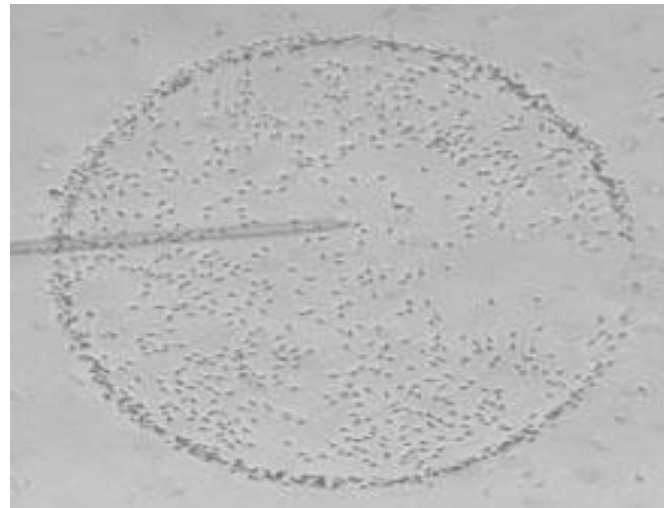


PICSI (Physiological IntraCytoplasmic Sperm Injection)





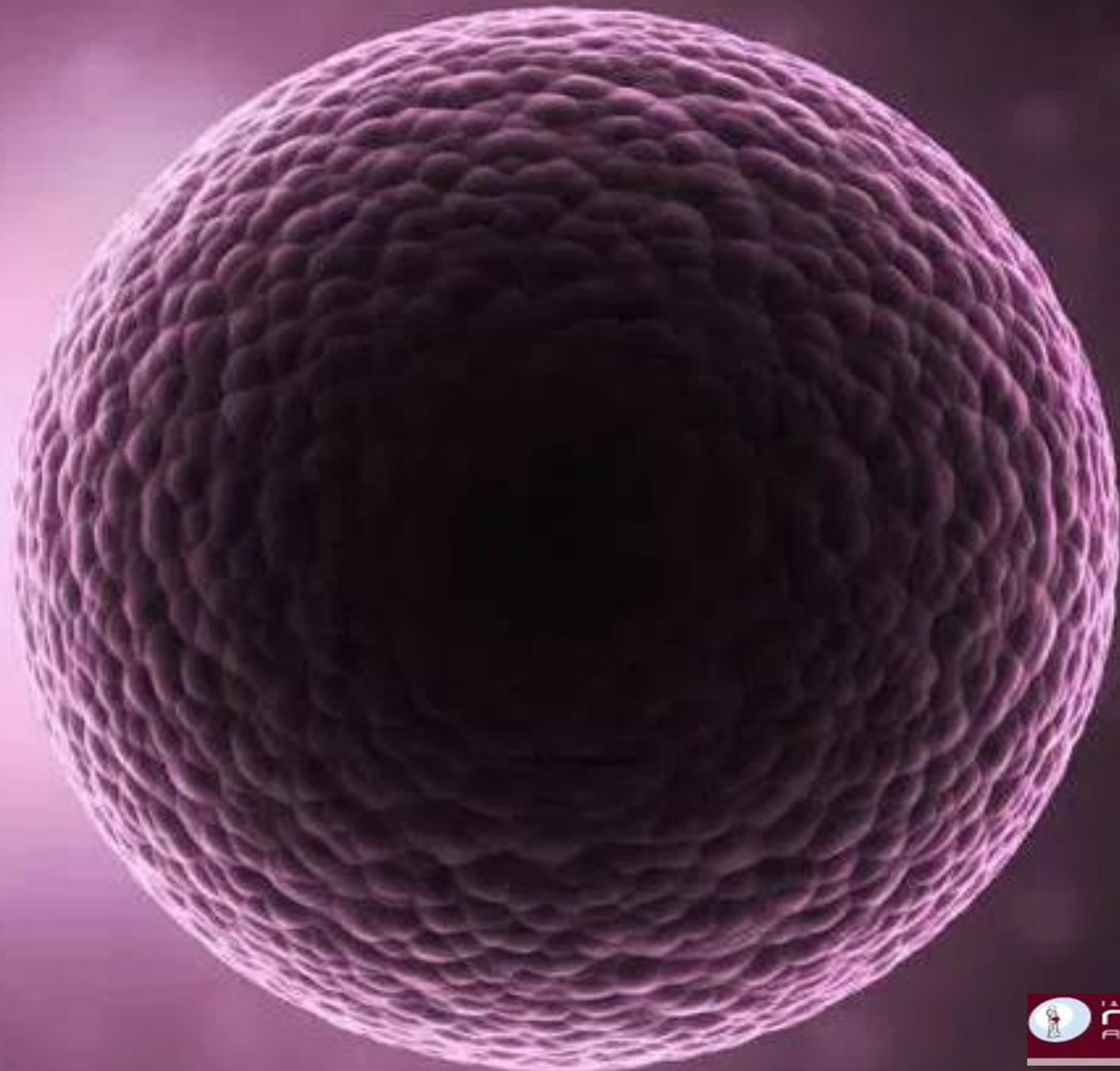
PICSI (Physiological IntraCytoplasmic Sperm Injection)





ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΙΚΑ ...

- Σε ΟΑ η καλύτερη μέθοδος είναι η MESA και η διαδερμική παρακέντηση (PESA)
- Σε ΟΑ υπάρχει η δυνατότητα χειρουργικής αποκατάστασης πριν την ανάκτηση σπερματοζωαρίων με MESA ή TESE.
- Συνιστάται να αποφεύγονται οι τυφλές πολλαπλές βιοψίες στον ίδιο όρχι, επειδή υπάρχει κίνδυνος βλάβης των αγγείων με επακόλουθο την ατροφία.
- Προτείνεται η χρήση micro TESE για αυτούς τους λόγους.
- Προτιμάται να γίνει η λήψη των σπερματοζωαρίων την ίδια ημέρα της ωοληψίας κατά τη διάρκεια της ICSI ώστε να έχουμε βιώσιμα σπερματοζωάρια.
- Τα καλύτερα αποτελέσματα με ΝΟΑ τα έχουμε με νωπό σπέρμα από Microdissection ή TESE.



Σας ευχαριστώ