

# Γενετικός Έλεγχος του Υπογονιμίου Άνδρα:

Πότε τον ζητάμε, πως διαβάζουμε το  
αποτέλεσμα, τι ενημέρωση κάνουμε  
στον ασθενή

Γιάννης Γεωργίου

Ιατρική Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Η ανδρική υπογονιμότητα μπορεί να υποδηλώνει την ύπαρξη γενετικής διαταραχής ή συνδρόμου που μπορεί να κληρονομηθεί στους απογόνους

- Ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων γενικά
- Δομικές ανωμαλίες του χρωμοσώματος Y
- Μονογονιδιακά γενετικά νοσήματα
- Μεταλλάξεις των μιτοχονδρίων
- Πολυπαραγοντικά –συγγενείς ανωμαλίες

**Table 1: Male infertility causes and associated factors and percentage of distribution in 10,469 patients [6]**

Diagnosis	Unselected patients (n = 12,945)	Azoospermic patients (n = 1,446)
<i>All</i>	100%	11.2%
<i>Infertility of known (possible) cause</i>	42.6%	42.6%
Maldescended testes	8.4	17.2
Varicocele	14.8	10.9
Sperm autoantibodies	3.9	-
Testicular tumour	1.2	2.8
Others	5.0	1.2
<i>Idiopathic infertility</i>	30.0	13.3
<i>Hypogonadism</i>	10.1	16.4
Klinefelter's syndrome (47, XXY)	2.6	13.7
XX male	0.1	0.6
Primary hypogonadism of unknown cause	2.3	0.8
Secondary (hypogonadotropic) hypogonadism	1.6	1.9
Kallmann syndrome	0.3	0.5
Idiopathic hypogonadotrophic hypogonadism	0.4	0.4
Residual after pituitary surgery	<0.1	0.3
Others	0.8	0.8
Late-onset hypogonadism	2.2	-
Constitutional delay of puberty	1.4	-
<i>General/systemic disease</i>	2.2	0.5
<i>Cryopreservation due to malignant disease</i>	7.8	12.5
Testicular tumour	5.0	4.3
Lymphoma	1.5	4.6
Leukaemia	0.7	2.2
Sarcoma	0.6	0.9
<i>Disturbance of erection/ejaculation</i>	2.4	-
<i>Obstruction</i>	2.2	10.3
Vasectomy	0.9	5.3
Cystic fibrosis (CBAVD)	0.5	3.1
Others	0.8	1.9

Υποδοχείς αυξητικών παραγόντων

Υποδοχείς στεροειδών

Υποδοχείς γοναδοτροφινών

Διαβιβαστές

Μόρια προσκόλησης

DAX1

Dmrt1

KITL

# Κύτταρα

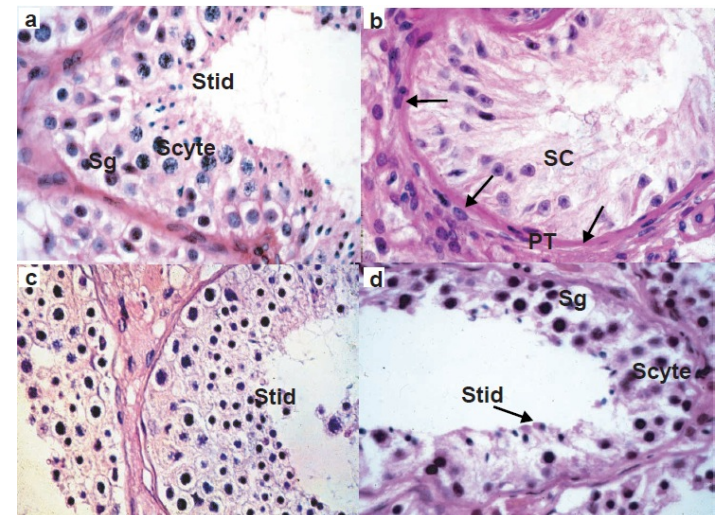
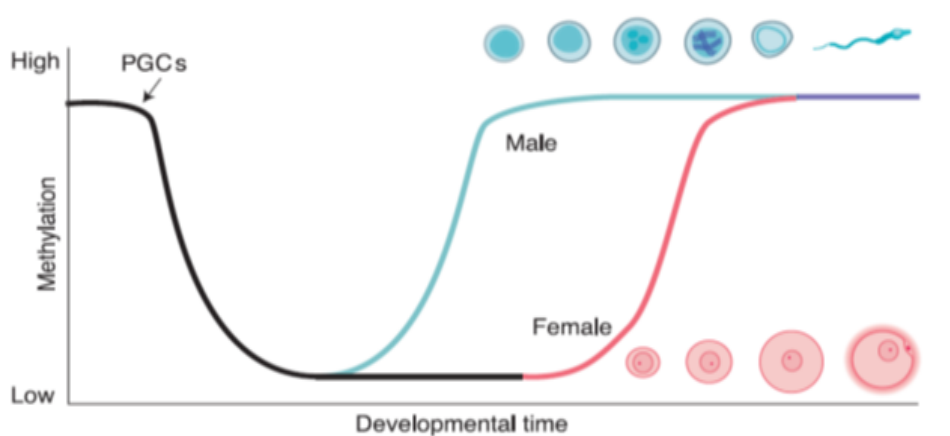
Sertoli cells

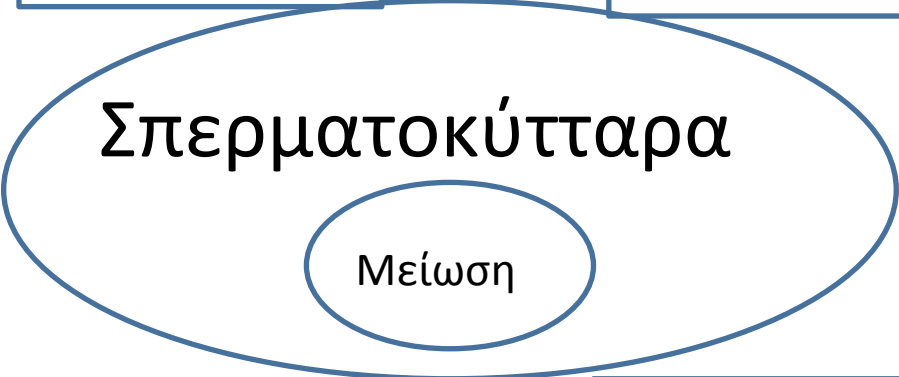
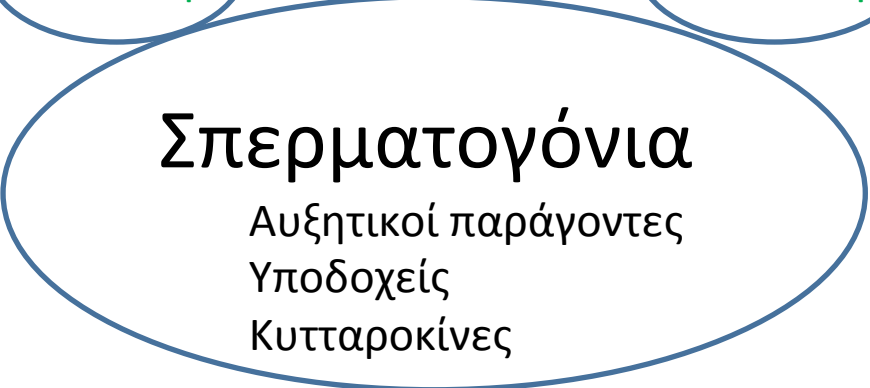
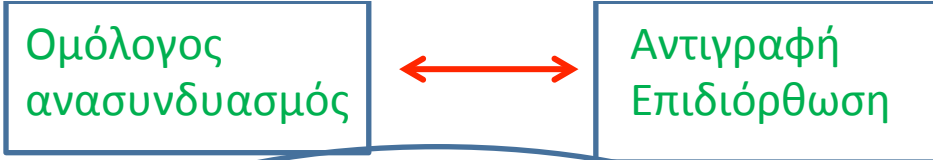
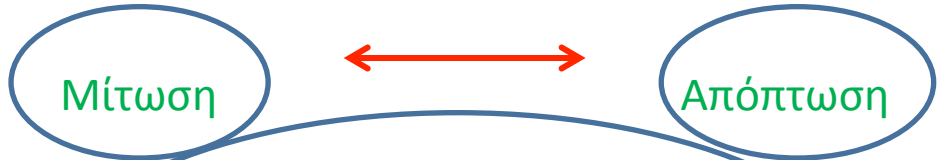
Peritubular cells

Interstitial cells

Leyding cells

Macrophages





Αντιαποπτωτικοί παράγοντες (BCL2)  
Ενεργοποιητές του κυτταρικού κύκλου

Προαποπτωτικοί παράγοντες (BAX)

Ζευγάρωμα χρωμοσωμάτων/ συνάψεις

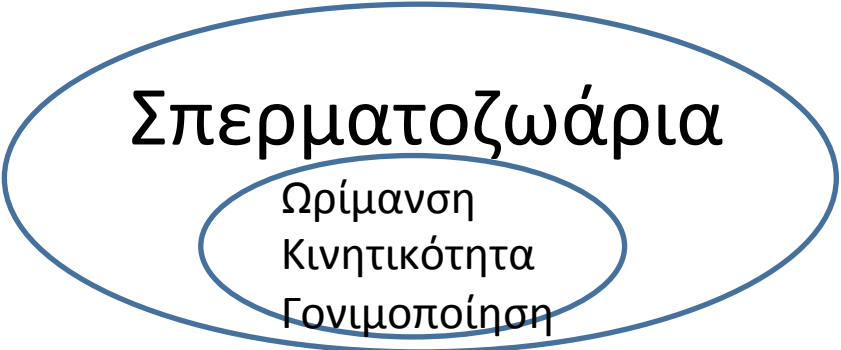
Σταθερότητα γενώματος

Ενεργοποίηση

Υπερκινητικότητα

Κυτταρική αναδιάταξη

Πακετάρισμα χρωματίνης



Διάτρηση διαφανούς ζώνης

Πυρηνική αποσυμπύκνωση

Κυτταροπλασματική εκβολή

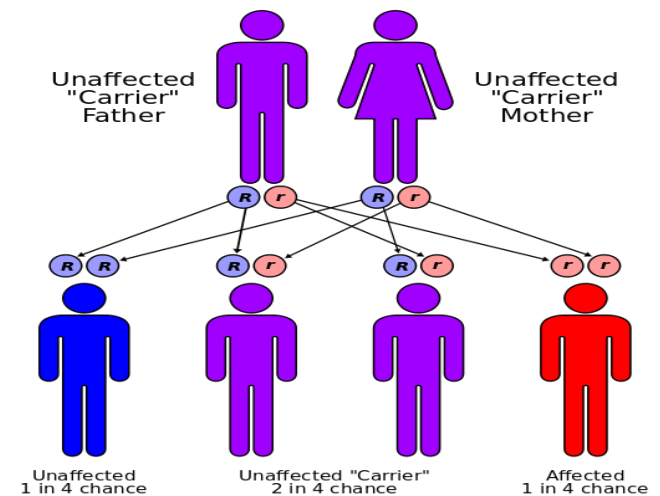
Συμπύκνωση πυρήνα

# Γενετικά αίτια Ανδρικής Υπογονιμότητας

- I. Διαταραχές του φύλου και ανωμαλίες της ανάπτυξης
- II. Ενδοκρिनοπάθειες
- III. Αριθμητικές και Δομικές ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων
- IV. Παραγωγή και λειτουργικότητα των σπερματοζωαρίων
- V. Χρωμοσωματικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων

# I. Διαταραχές του φύλου και ανωμαλίες της ανάπτυξης

1. Ψευδοερμαφροδιτισμός (NR5A1=SF1)
2. Αντιστροφή φύλου (SOX9, SRY, NR0B1=DAX1)
3. Υποσπαδία (Pseudovaginal perineoscrotal SRD5A)
4. Κρυφορχία (HOXA10, INSL3, GREAT)
5. Αμφοτερόπλευρη απουσία του σπερματικού πόρου (CBAVD=CFTR) ή αποφρακτική αζωοσπερμία
6. Σύνδρομο παραμονής των πόρων του Μίλερ (AMH, AMHR)
7. Denys – Drash (WT1)



## II. Ενδοκρινοπάθειες

1. Υπογοναδοτροφικός Υπογοναδισμός (GNRH, GNRHR, KAL, PC1, LEP, PCSK1)
2. Ανωμαλίες υπόφυσης και έκλυσης γοναδοτροφινών (LHB, CGLHR, HESX1, LHX3, PROP1)
3. Βιοσύνθεση στεροειδών (StAR, CYP17, CYP21, TOD)
4. Μεταβολισμός στεροειδών (SRD5, SRD5A)
5. Δράση στεροειδών (AR, ESR1)
6. Υποπλασία επινεφριδίων XLR (AHC)



### III. Αριθμητικές και Δομικές ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων

1. Klinefelter (XXY, XXXY)
2. Μικτή γοναδική δυσγενεσία (45X, 46XY)
3. Μεταθέσεις (+Robertsonian)
4. Αναστροφές
5. Ελλείμματα
6. Μικροελλείμματα του Y
7. XX άρρεν
8. XY θήλυ

# IV. Παραγωγή και λειτουργικότητα των σπερματοζωαρίων

1. Μυοτονική δυστροφία (DMPK) (AD)
2. Noonan (PTPN11)
3. Kartagener, Primary cilia dyskinesia (DNAI1, DNAH5, DNAH11) (AR)
4. B-Thalassemia, Sickle cell disease (B glo)
5. Ataxia telangiectasia (ATM)
6. Fanconi (FANCA)
7. Kennedy disease (AR) (XLR)

Hum Genet (2001) 108:494–498  
DOI 10.1007/s004390100534

## ORIGINAL INVESTIGATION

Ioannis Georgiou · Karen Sermon · Willy Lissens · Aniek De Vos · Peter Platteau · Dimitrios Lolis · Andre Van Steirteghem · Inge Liebaers

### Preimplantation genetic diagnosis for spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA)

Received: 17 January 2001 / Accepted: 20 April 2001 / Published online: 31 May 2001  
© Springer-Verlag 2001

**Abstract** X-linked spinal and bulbar muscular atrophy is characterized by adult onset motor neuron disease and results from a defect in the androgen receptor. The disease is caused by a dynamic mutation in the first exon of the androgen receptor gene, involving a CAG trinucleotide repeat. We have developed a single-cell polymerase chain reaction assay for the androgen receptor gene and describe the application of this assay for preimplantation genetic diagnosis (PGD) in a couple at risk, where the female partner is a carrier of 47 repeats. Diagnosis was based on the detection of both normal and expanded alleles. Allele dropout of the expanded allele was observed in only 1 of 25 lymphoblasts of the carrier and of a non-expanded allele in 1 of 20 research blastomeres tested before the actual PGD. One contraction of four repeats was also found in the carrier's lymphoblasts. Neither expansions nor contractions were observed in the blastomeres biopsied from 11 embryos. Two embryos were unaffected, eight were female carriers and one was an affected male embryo.

#### Introduction

Since the identification of triplet-repeat expansions as a cause of human inherited disorder, several disorders with anticipation and/or late onset have been elucidated and

shown to have dynamic mutations attributable to triplet-repeat expansions at the molecular level. These dynamic mutations may lie either in the coding region of genes or in the non-coding regions (Cummings and Zoghbi 2000).

Spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA) or Kennedy's disease (MIM no. 313200) is such an X-linked disorder, characterized by progressive muscle weakness and atrophy. Affected males may also present with gynaecomastia, reduced fertility (azoospermia, oligospermia) and androgen receptor insensitivity. The molecular defect lies in the androgen receptor gene on the long arm of the X chromosome (Xq12) and belongs to the family of dynamic mutations involving trinucleotide repeats. This particular mutation increases the size of a polymorphic tandem repeat (CAG), in the first exon of the coding region (La Spada et al. 1991). In affected males and carrier females, the repeat lengths range between 40 and 62, whereas in normal individuals, the repeat lengths range between 13 and 30 CAGs (La Spada et al. 1992).

Here, we describe the first preimplantation genetic diagnosis (PGD) for SBMA based on the fluorescent amplification of the repeated sequence in embryos from an infertile couple at risk. In this couple, the female partner was a carrier of the expansion and diagnosis was based on the detection of the informative normal alleles of both partners, which differed in length, and the expanded allele of the carrier female.

#### Materials and methods

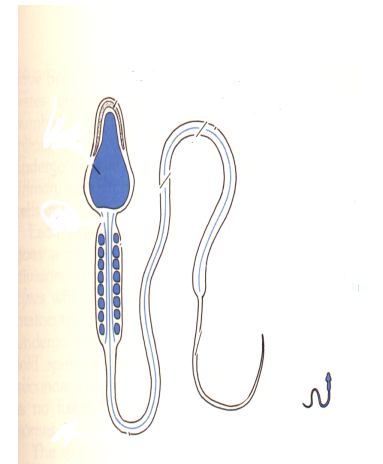
The single-cell approach was developed in three consecutive steps, starting with 100 pg DNA from the couple at risk, then the use of single cells from their stable Epstein-Barr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and finally the use of blastomeres from embryos donated for research. This approach has been extensively described before and only the most important details are given here (Sermon et al. 1998a, 1998b).

Collection of single lymphoblasts and blastomeres  
Lymphoblast colonies were collected from an EBV lymphoblastoid cell line (Ventura et al. 1988) from the female carrier at risk

I. Georgiou · D. Lolis  
Genetics and IVF Unit,  
Department of Obstetrics and Gynecology, Medical School,  
University of Ioannina, 45100 Ioannina, Greece  
K. Sermon (✉) · W. Lissens · I. Liebaers  
Centre for Medical Genetics, University Hospital,  
Dutch-Speaking Brussels Free University,  
Laarbeeklaan 101, 1090 Brussels, Belgium  
e-mail: lgzmnk@as.vub.ac.be  
A. De Vos · P. Platteau · A. Van Steirteghem  
Centre for Reproductive Medicine, University Hospital,  
Dutch-Speaking Brussels Free University,  
Laarbeeklaan 101, 1090 Brussels, Belgium

# Διαταραχές της κινητικότητας, της μορφολογίας και της δομής των μαστιγίων

- Ετερογενής κατηγορία νοσημάτων
- Σύνδρομο Kartagener (βρογχιεκτασία, ακινησία σπερματοζωαρίων, αναστροφή σπλάχνων)
- Μονομορφικές διαταραχές των σπερματοζωαρίων (globozoospermia)
- Αυτοσωματική υπολειπόμενη ή φυλοσύνδετη κληρονομικότητα ή πολυπαραγοντική



# Χρωμοσωματικές Ανωμαλίες

- Σε 11 δημοσιεύσεις με 9.766 υπογόνιμους άνδρες οι χρωμοσωματικές ανωμαλίες (αριθμητικές η δομικές) ήταν 5.8%.
- Οι ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων ήταν το 4.3%, ενώ των αυτοσωματικών 1.5%
- Συγκριτικά σε 94.465 νεογνά τα ποσοστά ήταν 0.14% και 0.25% αντίστοιχα (6-10X λιγότερα)

Johnson MD, Fertil Steril, 1998

# Συχνότητα των χρωμοσωματικών ανωμαλιών

- Αυξάνει με τη μείωση του αριθμού των σπερματοζωαρίων
- Οι υπογόνιμοι άνδρες με συγκεντρώσεις σπερματοζωαρίων  $< 5 \text{ million/mL}$  έχουν **10X** μεγαλύτερη συχνότητα (~4%) κυρίως **αυτοσωματικών δομικών ανωμαλιών** σε σχέση με το γενικό πληθυσμό

Clementini E, et al. Hum Reprod 2005 & Vincent MC, et al. J Androl 2002

- Άνδρες με **NOA** έχουν το **μέγιστο κίνδυνο** ειδικά για **ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων**.

# Συστάσεις

- Με βάση τις συχνότητες των χρωμοσωματικών ανωμαλιών σε σχέση με τη συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων **ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΣ** συνιστάται στους **αζωοσπερμικούς και OAT** με **< 10 million/mL**.
- Πρόσφατες μελέτες προτείνουν τον **ΚΑΡΥΟΤΥΠΟ** αποκλειστικά σε **NOA** για τη **πρόληψη των χρωμοσωματικών ανωμαλιών** στη κύηση.
- Αν όμως υπάρχει **οικογενειακό ιστορικό καθ'έξιν αποβολών συγγενών ανωμαλιών**, η νοητικής υστέρησης, ο **ΚΑΡΥΟΤΥΠΟΣ** συνιστάται **ανεξάρτητα** από τη συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων.

# Ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων

- Γαμέτες η σπερματοζωάρια μπορεί να βρεθούν σε άνδρες με **μωσαϊκισμό Klinefelter, 46,XY/47,XX**.
- Αυτά τα σπερματοζωάρια δείχνουν αύξηση της συχνότητας των **ανωμαλιών των φυλετικών χρωμοσωμάτων** και **αυξημένη συχνότητα των ανευπλοειδιών των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων 13,18 και 21 με FISH**
- **Επιφυλάξεις** υπάρχουν για τη χρωμοσωματική επάρκεια των εμβρύων που δημιουργούνται με την ICSI

# Klinefelter και Υποβοηθούμενη Αναπαραγωγή

- Υπεραπλοειδικά σπερματοζωάρια **24,XY** ανευρίσκονται σε ποσοστά **0.9% ως 7.0%** των ανδρών με μωσαϊκό Klinefelter αλλά και σε **1.5-25%** σε περιπτώσεις με σωματικό καρυότυπο **47,XXY**
- Η TESE (η micro-TESE) προτείνεται ως θεραπευτική παρέμβαση καθώς **σπερματοζωάρια μπορούν να βρεθούν στο 30%** των περιπτώσεων
- Μια μελέτη με ICSI συνδυασμένη με PGD σε 113 embryos έδειξε **μεγάλη μείωση των φυσιολογικών εμβρύων από πατέρα με σύνδρομο Klinefelter σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (54% vs. 77.2%)** Guttenbach M, et al.
- Λόγω **σημαντικής αύξησης των ανωμαλιών των φυλετικών και των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων** από πατέρες με Klinefelter's συνιστάται **PGD η αμνιοπαρακέντηση**



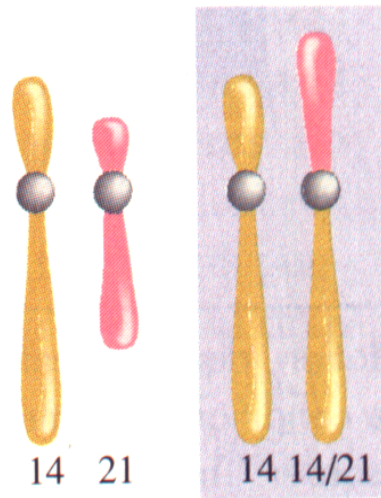
# Ανωμαλίες των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων

- Οι συχνότερες δομικές ανωμαλίες των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων είναι οι μεταθέσεις ακροκεντρικών χρωμοσωμάτων (Robertsonian), οι αμοιβαίες, οι περικεντρικές και τα χρωμοσώματα δείκτες (marker chromosomes).
- Οι δομικές ανωμαλίες συνοδεύονται από αυξημένο κίνδυνο ανευπλοειδιών ή ανισόζυγων χρωμοσωμάτων στο έμβρυο.
- Όπως και στο σ.Klinefelter, η ανάλυση των χρωμοσωμάτων των σπερματοζωαρίων με FISH ή κυτταρομετρία ροής δίνει καλύτερη εκτίμηση του κινδύνου .
- Συνιστάται η γενετική συμβουλευτική και καθοδήγηση στα ζευγάρια που ο σύζυγος έχει ανωμαλία των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων.

# Σύνοψη των Χρωμοσωματικών ανωμαλιών της μη-αποφρακτικής αζωοσπερμίας

- Μικροελλείμματα του Y <13%
- Σύνδρομο Klinefelter 5-10%
- Αμοιβαίες Μεταθέσεις 1-3%
- Άλλες ανωμαλίες του Y σπάνιες
- Μικροελλείμματα του X άγνωστη επίπτωση

# Κίνδυνοι σε φορείς ισοζυγισμένων αμοιβαίων μεταθέσεων (1120 οικογένειες)



- Μη-ισοζυγισμένα νεογνά 1-17%
- Θνησιγενή ή πρόωροι θάνατοι 5-8%
- **Αυτόματες αποβολές 20-27%**
- Μη-ισοζυγισμένο έμβρυο σε ΠΔ δευτέρου τριμήνου 14-28%
- *Stengel-Rutkowski et al. 1988*

# Χρωμοσωματικές ανωμαλίες των σπερματοζωαρίων

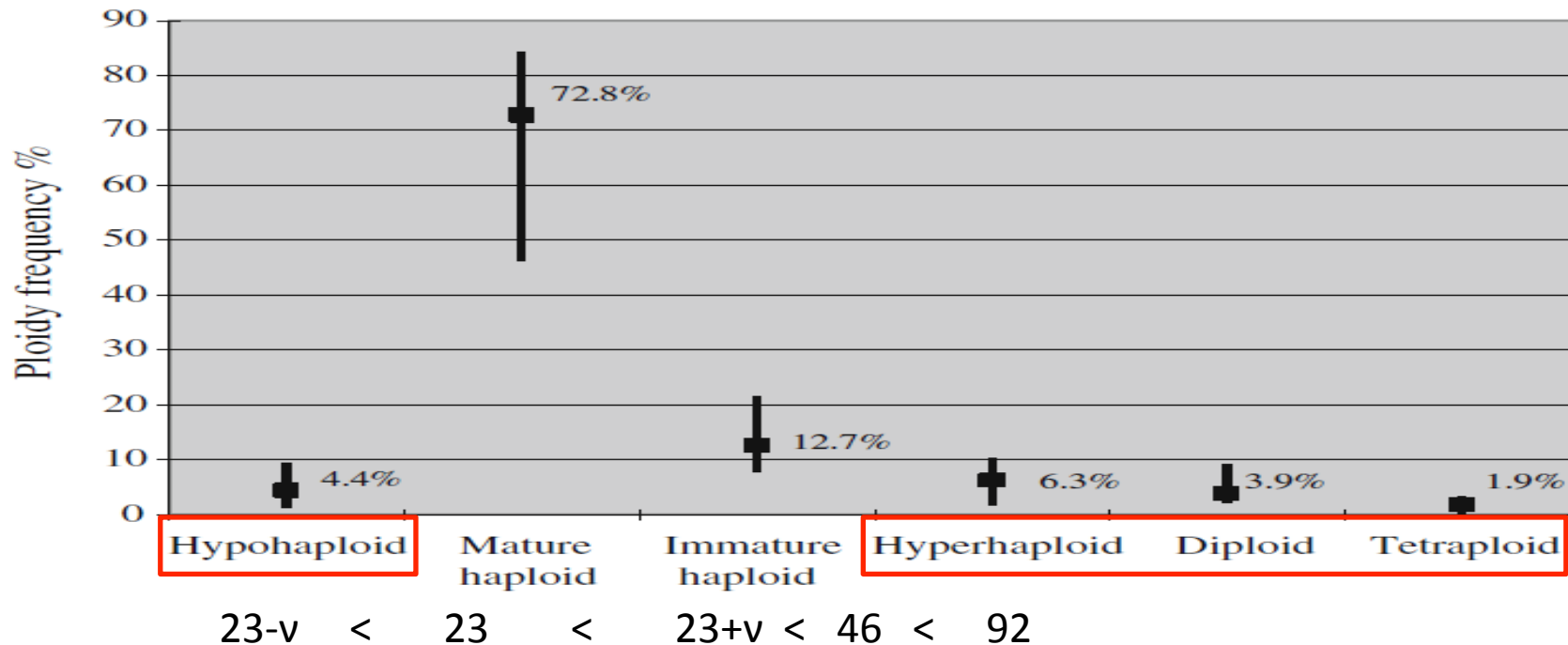
- Τα σπερματοζωάρια έχουν χρωμοσωματικές ανωμαλίες ανεξάρτητα από το σωματικό καρυότυπο και για αυτό πρέπει να ελέγχονται και σε άνδρες με φυσιολογικό καρυότυπο.
- Οι ανευπλοειδίες των σπερματοζωαρίων, ιδιαίτερα των φυλετικών χρωμοσωμάτων, και οι μεταθέσεις, σχετίζονται με σοβαρές βλάβες της σπερματογένεσης
- Η FISH στα σπερματοζωάρια ενδείκνεται μόνο για τις μονομορφικές ανωμαλίες της κεφαλής, ενώ η Κυταρομετρία ροής για όλες τις καταστάσεις.

# Χρωμοσωματικές ανωμαλίες στα σπερματοζωάρια



- Ιδιαίτερα **μεγάλη συχνότητα αριθμητικών ανωμαλιών στην ομάδα των OAT.** (Απουσία επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA στις στα σπερματοζωάρια).
- Σε **μη αποφρακτικές αζωοσπερμίες:** αύξηση της συχνότητας ανευπλοειδιών των φυλετικών χρωμοσωμάτων
- Σε άτομα με ανευπλοειδίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων αύξηση των υπεραπλοειδικών ή **δισωμικών σπερματοζωαρίων**

# Τυπική κατανομή της πλοειδίας των σπερματοζωαρίων



Using semen flow cytometry to evaluate association of ploidy status and chromatin condensation of spermatozoa with conventional semen parameters: Clinical application in intrauterin insemination

Leandros Lazaros, Ph.D.,<sup>a</sup> Apostolos Kaponis, M.D.,<sup>a</sup> Georgios Vartholomatos, Ph.D.,<sup>b</sup> Elissavet Hatz, Ph.D.,<sup>a</sup> Stefania Botsari, M.D.,<sup>a</sup> Nikolaos Plachouras, M.D.,<sup>a</sup> Georgios Makrydimas, M.D.,<sup>a</sup> Konstantinos Zikopoulos, M.D.,<sup>a</sup> Nikolaos Sofikitis, M.D.,<sup>c</sup> and Ioannis Georgiou, Ph.D.<sup>a</sup>

Fertility and Sterility 2010

**Table 1** Association of fertilization, pregnancy, abortion rates and embryo quality with sperm chromatin condensation

	Group A1	Group A2	<i>p</i> value
Number of patients	72	78	
Age (years)	35.1±6.7	34.4±6.5	ns <sup>a</sup>
Sperm concentration (×10 <sup>6</sup> spermatozoa/ml)	72.9±30.8	71.4±30.1	ns <sup>a</sup>
Sperm motility (%)	52.9±8.8	50.2±8.4	ns <sup>a</sup>
Normal sperm morphology (%)	27.2±6.3	30.1±8.7	ns <sup>a</sup>
Number of oocytes	14±6.1	12.5±5.7	ns <sup>a</sup>
Fertilization rate (%)	60.7±19.8	79.4±19.1	0.005 <sup>a</sup>
Grade A embryos (%)	19.9±8.4	35.7±10.1	0.003 <sup>a</sup>
Grade B embryos (%)	20.2±9.3	29.5±8.8	ns <sup>a</sup>
Grade C embryos (%)	38.1±11.9	20.1±9.2	0.002 <sup>a</sup>
Grade D embryos (%)	18.2±6.6	11.3±5.4	ns <sup>a</sup>
Pregnancy rate (%)	19.4	39.7	0.006 <sup>b</sup>
Abortion rate (%)	33.3	21.7	ns <sup>b</sup>

Group A1: percentage of mature spermatozoa <65.1%, Group A2: percentage of mature spermatozoa ≥65.1%.

<sup>a</sup> *t*-test analysis

<sup>b</sup> Chi square test analysis

### Assessment of sperm chromatin condensation and ploidy status using flow cytometry correlates to fertilization, embryo quality and pregnancy following in vitro fertilization

Leandros A. Lazaros Georgios A. Vartholomatos Elissavet G. Hatzi Apostolos I. Kaponis Georgios V. Makrydimas Sophia N. Kalantaridou Nikolaos V. Sofikitis Theodoros Ioannis Stefos & Konstantinos A. Zikopoulos Ioannis A. Georgiou

**J Assist Reprod Genet 2011**

**Table 2** Association of fertilization, pregnancy, abortion rates and embryo quality with sperm ploidy status

	Group B1	Group B2	<i>p</i> value
Number of patients	76	74	
Age (years)	34.1±7.2	34.8±6.9	ns <sup>a</sup>
Sperm concentration (×10 <sup>6</sup> spermatozoa/ml)	69.3±34.9	74.8±33.1	ns <sup>a</sup>
Sperm motility (%)	51±9.1	52.7±8.9	ns <sup>a</sup>
Normal sperm morphology (%)	30.6±5.3	25.2±4.2	ns <sup>a</sup>
Number of oocytes	12.7±5.3	13.8±6.2	ns <sup>a</sup>
Fertilization rate (%)	77.2±20.9	58.7±18.8	0.007 <sup>a</sup>
Grade A embryos (%)	33.1±11.3	18.3±6.8	0.004 <sup>a</sup>
Grade B embryos (%)	28.9±9.1	21.1±9.8	ns <sup>a</sup>
Grade C embryos (%)	19.8±9.5	38.4±12	0.002 <sup>a</sup>
Grade D embryos (%)	10±5.7	18.5±6.9	ns <sup>a</sup>
Pregnancy rate (%)	42.1	20.2	0.003 <sup>b</sup>
Abortion rate (%)	24	28.6	ns <sup>b</sup>

Group B1: total sperm aneuploidy rate <16.7%, Group B2: total sperm aneuploidy rate ≥16.7%.

<sup>a</sup> *t*-test analysis

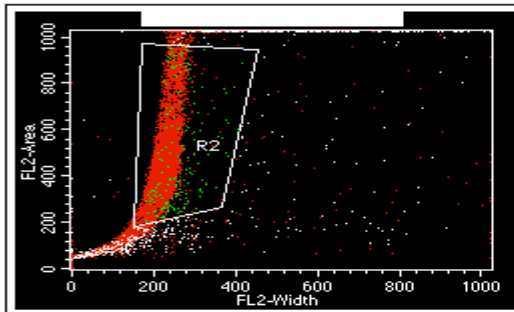
<sup>b</sup> Chi square test analysis

**Assessment of sperm chromatin condensation and ploidy status using flow cytometry correlates to fertilization, embryo quality and pregnancy following in vitro fertilization**

Leandros A. Lazaros Georgios A. Vartholomatos Elissavet G. Hatzi Apostolos I. Kaponis Georgios V. Makrydimas Sophia N. Kalantaridou Nikolaos V. Sofikitis Theodoros Ioannis Stefos & Konstantinos A. Zikopoulos Ioannis A. Georgiou

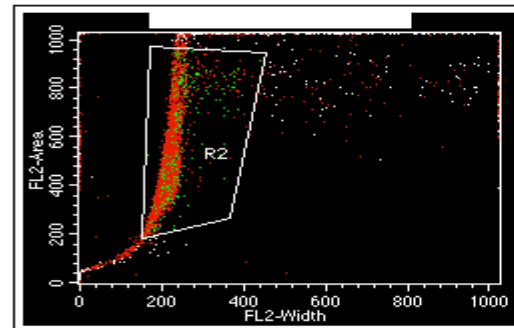
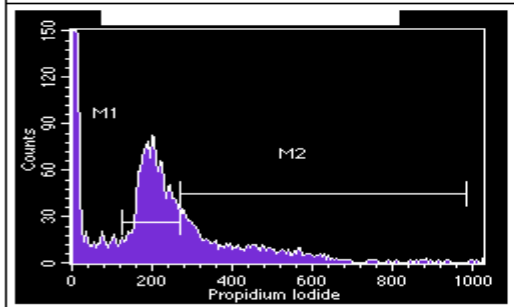


# Κυτταρομετρία ροής σπέρματος: Έλεγχος πλοειδιών σπέρματος με PI



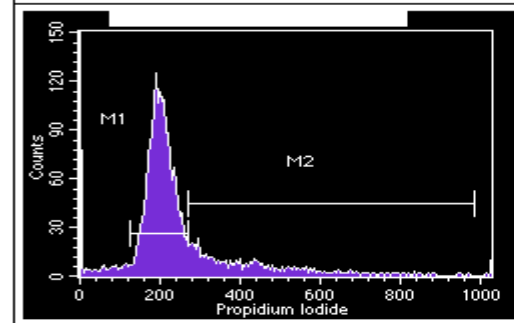
File:  
Sample ID:  
Acquisition Date: 27-Sep-11  
X Parameter: Propidium iodide (Linear)

Marker	% Gated	Geo Mean
All	100.00	2.45
M1	7.12	200.66
M2	3.26	374.55



File:  
Sample ID:  
Acquisition Date: 30-Nov-11  
X Parameter: Propidium iodide (Linear)

Marker	% Gated	Geo Mean
All	100.00	163.56
M1	75.35	198.93
M2	16.31	377.39



## Sperm flow cytometric parameters are associated with ICSI outcome

Leandros Lazaros a, Georgios Vartholomatos b, Christina Pamporaki a, Ioannis Kosmas c, Atsushi Takenaka d, Georgios Makrydimas a, Nikolaos Sofikitis e, Theodoros Stefos a, Konstantinos Zikopoulos a, Elissavet Hatzi a, Ioannis Georgiou a,\*

Reproductive BioMedicine Online 2013

# Sperm flow cytometric parameters are associated with ICSI outcome

Table 1 Characteristics of the men and women in the study population and the control group.

	Study population	Control group	P-value
Men (n)	16	20	
Age (years)	38 ± 4	37 ± 3	NS
Sperm concentration (10 <sup>6</sup> spermatozoa/ml)	9 ± 6	16 ± 5	<0.001
Sperm motility (%)	35 ± 14	44 ± 14	NS
Normal sperm morphology (%)	10 ± 5	18 ± 4	<0.001
Fully condensed sperm chromatin (%)	33 ± 6	60 ± 10	<0.001
Normal haploid spermatozoa (%)	15 ± 3	43 ± 7	<0.001
Women (n)	16	20	
Age (years)	32 ± 3	32 ± 4	NS
LH (mIU/ml)	5.5 ± 1.7	6.5 ± 1	NS
FSH (mIU/ml)	6.7 ± 1.6	6.3 ± 1.4	NS
Oestradiol (pg/ml)	126 ± 28	121 ± 18	NS

Values are mean ± standard deviation unless otherwise stated. NS = not significant.

## Sperm flow cytometric parameters are associated with ICSI outcome

Leandros Lazaros a, Georgios Vartholomatos b, Christina Pamporaki a, Ioannis Kosmas c, Atsushi Takenaka d, Georgios Makrydimas a, Nikolaos Sofikitis e, Theodoros Stefos a, Konstantinos Zikopoulos a, Elissavet Hatzi a, Ioannis Georgiou a,\*

Reproductive BioMedicine Online 2013

# Πατρική συνεισφορά στην ανάπτυξη των προεμφυτευτικών εμβρύων

Table 2 Outcomes of the study population and the control group.

	Study population	Control group	P-value	Adjusted P-value <sup>a</sup>
No. of couples	16	20		
No. of ICSI cycles	35	29		
No. of mature oocytes	12.6 ± 3.7	11.8 ± 3.4	NS	NS
Fertilization rate	77.7 ± 13	91.7 ± 6.5	<0.001	0.009
<i>Embryo grade rate</i>				
Grade A	29.1 ± 15.3	41.7 ± 18.7	0.004	0.034
Grade B	35.7 ± 16	37.1 ± 14.8	NS	NS
Grade C	25.0 ± 18.0	17.0 ± 9.2	0.028	0.041
Grade D	10.0 ± 13.1	5.0 ± 7.6	NS	NS
Arrested embryo rate at day 3	76.8 ± 6.5	26.3 ± 9.5	<0.001	<0.001
Clinical pregnancy rate per cycle	17.1	44.8	<0.020	—

## Sperm flow cytometric parameters are associated with ICSI outcome

Leandros Lazaros a, Georgios Vartholomatos b, Christina Pamporaki a, Ioannis Kosmas c, Atsushi Takenaka d, Georgios Makrydimas a, Nikolaos Sofikitis e, Theodoros Stefos a, Konstantinos Zikopoulos a, Elissavet Hatzi a, Ioannis Georgiou a,\*

Reproductive BioMedicine Online 2013

# Αυξημένος κίνδυνος χρωμοσωματικών ανωμαλιών

Είδος βλάβης	ICSI	Γεν. Πληθυσμός	X
Αριθμητικές ανωμαλίες αυτοσωματικών χρ/των	0.5-1.4%	0.14%	<10X
<i>de novo</i> δομικές ανωμαλίες	0.23-0.27%	0.07%	~3-4X
<i>de novo</i> αριθμητικές ανωμαλίες των X και Y	0.23-0.83%	0.19%	<4X

*Antoni and Hamori 2001, Bonduelle et al. 1998*

# Αποτελέσματα της Βελγικής μελέτης γενετικών ανωμαλιών σε 3069 παιδιά από ICSI μέχρι το 1998

## A. Χρωμοσωματικές ανωμαλίες (1082 παιδιά)

• de novo	18	1.66%
- αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων	9	0.83%
- φυλετικών χρωμοσωμάτων	9	0.83%
• κληρονομικές ανωμαλίες	10	0.92%
- ισοζυγισμένες	9	0.83%
- μη ισοζυγισμένες	1	0.09%

## B. Συγγενείς ανωμαλίες (1987 παιδιά)

• σε νεογέννητα	46	2.3%
• προγεννητικά	7	0.35%
• σε θνησιγενή	4	0.2%
• αργότερα	10	0.5%

} 3.35%

## Γ. Θνησιγενή (εμβρυϊκοί θάνατοι >20 εβδ.)

	21	1.1%
--	----	------

*Bonduelle et al., 1999*

# Αποτελέσματα της Βελγικής σειράς μέχρι το 2002

- 8.319 παιδιά από ICSI
- μικρή αύξηση των *de novo* χρωμοσωματικών ανωμαλιών
- **Αύξηση των κληρονομούμενων δομικών ανωμαλιών κυρίως από τον πατέρα**
  - φυλετικών χρωμοσωμάτων 0.6% έναντι 0.2% (**4X**)
  - δομικές ανωμαλίες των αυτοσωματικών χρ 0.4% έναντι 0.07% (**6X**)

*Van Steirteghem et al., 2002, Bonduelle et al., 2002*

# Αποτελέσματα της Σουηδικής αναδρομικής μελέτης σε 1139 παιδιά από ICSI

Συγγενείς ανωμαλίες	87	7.6%
-μείζονες	47	4.1%
-ελάσσονες	40	3.5%

Υποσπαδίες , αύξηση x 3

*Wennerholm et al., 2000*

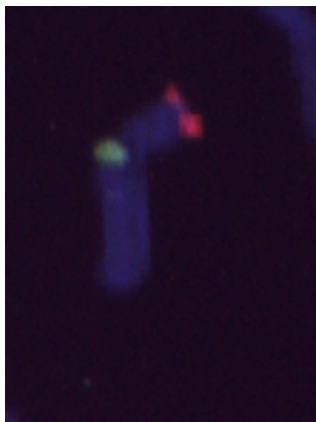
# Γονιδιακές διαταραχές και ανδρική υπογονιμότητα

- ***X-linked ανδρική υπογονιμότητα:*** Κάθε άνδρας έχει μόνο ένα χρωμόσωμα X. Για το λόγο αυτό τα συνδεδεμένα με το X υπολειπόμενα νοσήματα εμφανίζονται μόνο στους άνδρες και μεταβιβάζονται στις κόρες τους (φορείς) αλλά όχι στους γιούς.
- ***Y-linked ανδρική υπογονιμότητα:*** αφορά στα γονίδια του χρωμοσώματος Y
- ***Αυτοσωματική ανδρική υπογονιμότητα:*** αφορά στα γονίδια των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων



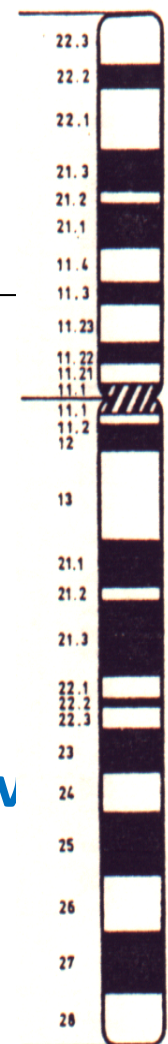
# *X-linked ανδρική υπογονιμότητα*

- **Σύνδρομο Kallmann**
- Οι πάσχοντες από το σ.Kallmann έχουν Υπογοναδοτροφικό Υπογοναδισμό και ανοσμία, ενδεχομένως και άλλα χαρακτηριστικά όπως, ασυμμετρία προσώπου, λυκόστομα, αχρωματοψία, κώφωση, κρυφορχία και ετερόπλευρη νεφρική απλασία.
- Το σύνδρομο μπορεί να οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου *Kalig-1* [στο X] ή σε άλλα αυτοσωματικά γονίδια.
- Η σπερματογένεση υποστηρίζεται με ορμονική υποκατάσταση, όμως προτείνεται ο γενετικός έλεγχος πριν από τη θεραπεία.
- Οι γοναδοτροπίνες βοηθούν στη γονιμότητα των περισσότερων περιπτώσεων, ακόμα και σε αυτούς με χαμηλό αριθμό σπερματοζωαρίων για αυτό ο εντοπισμός του υπεύθυνου γονιδίου (X-linked, autosomal dominant or recessive) θα αποτρέψει τη μετάδοση στους απογόνους με κατάλληλη γενετική καθοδήγηση



# Υπογοναδοτροφικός Υπογοναδισμός

- Σύνδρομο Kallman (μεταλλάξεις KAL-1 και ελλείμματα Χρ22) στο 5% των ανδρών με ΥΥ
- Συγγενής υποπλασία των επινεφριδίων και των όρχεων (μεταλλάξεις DAX-1, FTZ-1, SF-1)

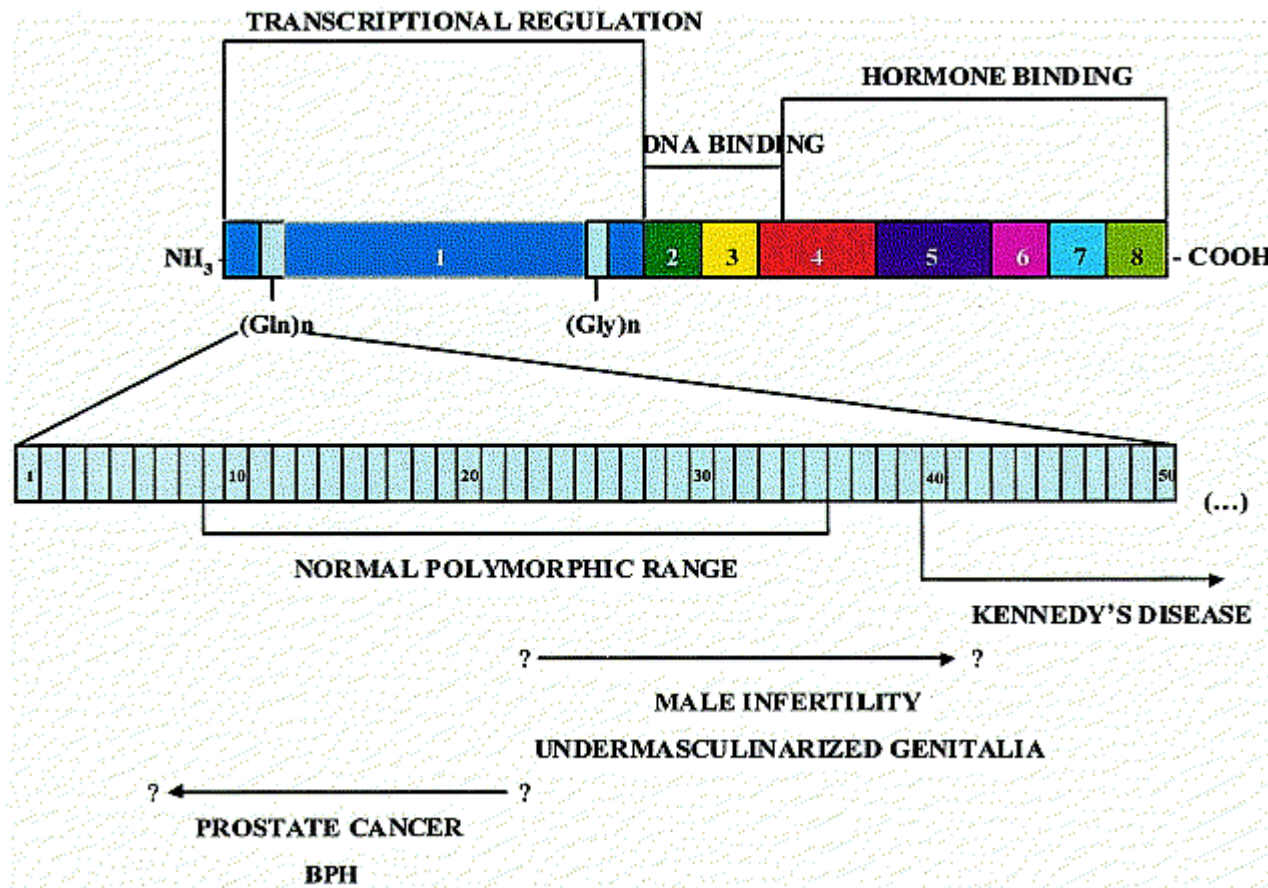


X

# *X-linked ανδρική υπογονιμότητα*

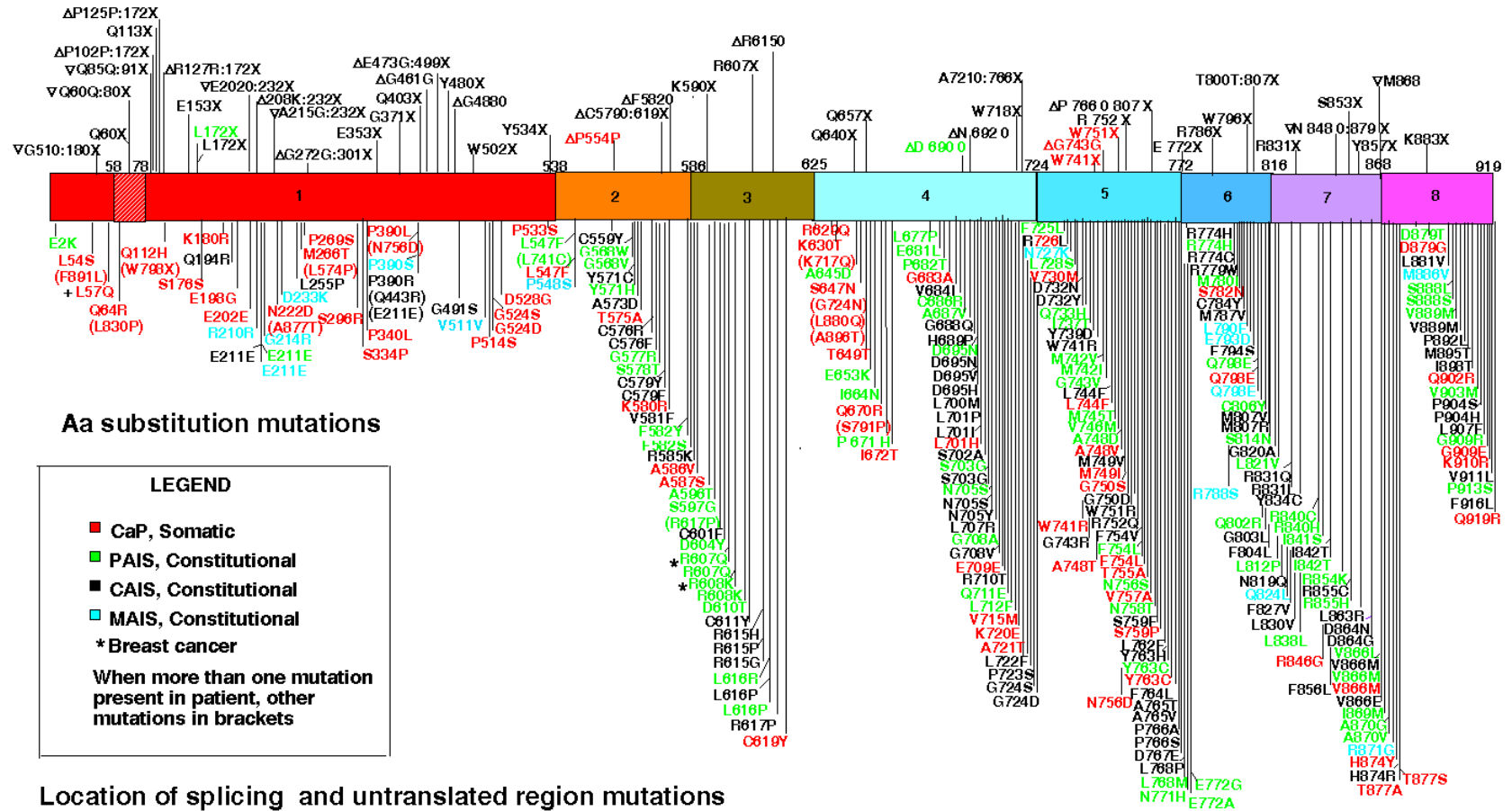
- **Σύνδρομο ήπιας αντίστασης στα ανδρογόνα**
- Το γονίδιο του υποδοχέα των ανδρογόνων AR εντοπίζεται στα μακρά σκέλη του χρωμοσώματος X. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου AR προκαλούν από ήπια μέχρι πλήρη αντίσταση στα ανδρογόνα. Τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της πλήρους αντίστασης είναι τα θήλεα έξω γεννητικά όργανα και η απουσία ηβικού τριχώματος (σύνδρομο Morris).
- Στη μερική αντίσταση στα ανδρογόνα, ο φαινότυπος ποικίλει από τα αμφίβολα έξω γεννητικά όργανα, μέχρι τον υποσπαδία και την κρυφορχία (σ. Reifenstein)
- Στις σοβαρές μορφές αντίστασης δεν υπάρχει κίνδυνος μετάδοσης της μετάλλαξης λόγω σύνθετων προβλημάτων υπογονιμότητας και αδυναμίας υποβοήθησης με τις υπάρχουσες τεχνικές.
- Στους έχοντες ήπια αντίσταση, η ανδρική υπογονιμότητα είναι το κύριο ή το μοναδικό κλινικό ή φαινοτυπικό χαρακτηριστικό. Αυτού του τύπου οι διαταραχές του υποδοχέα των ανδρογόνων είναι σπάνιες και λίγες μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί σε γόνιμους ή υπογόνιμους άνδρες.

# Ρόλος του τρινουκλεοτιδίου (CAG)<sub>n</sub> στην λειτουργία του ΥΑ

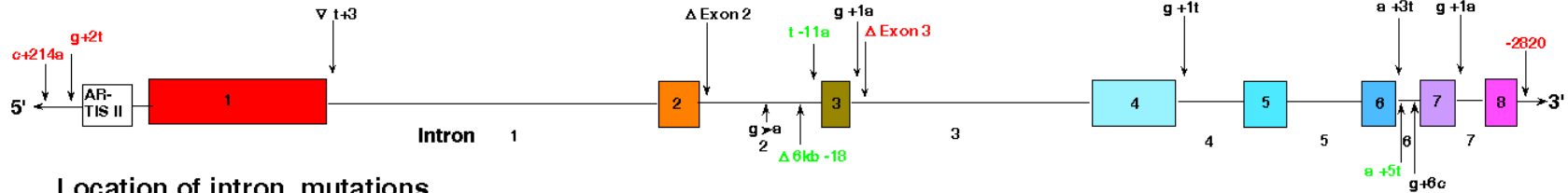


# ANDROGEN RECEPTOR GENE MUTATIONS, 30-7-03

Premature termination mutations or 1-6 bp  $\Delta$  or  $\nabla$



Location of splicing and untranslated region mutations



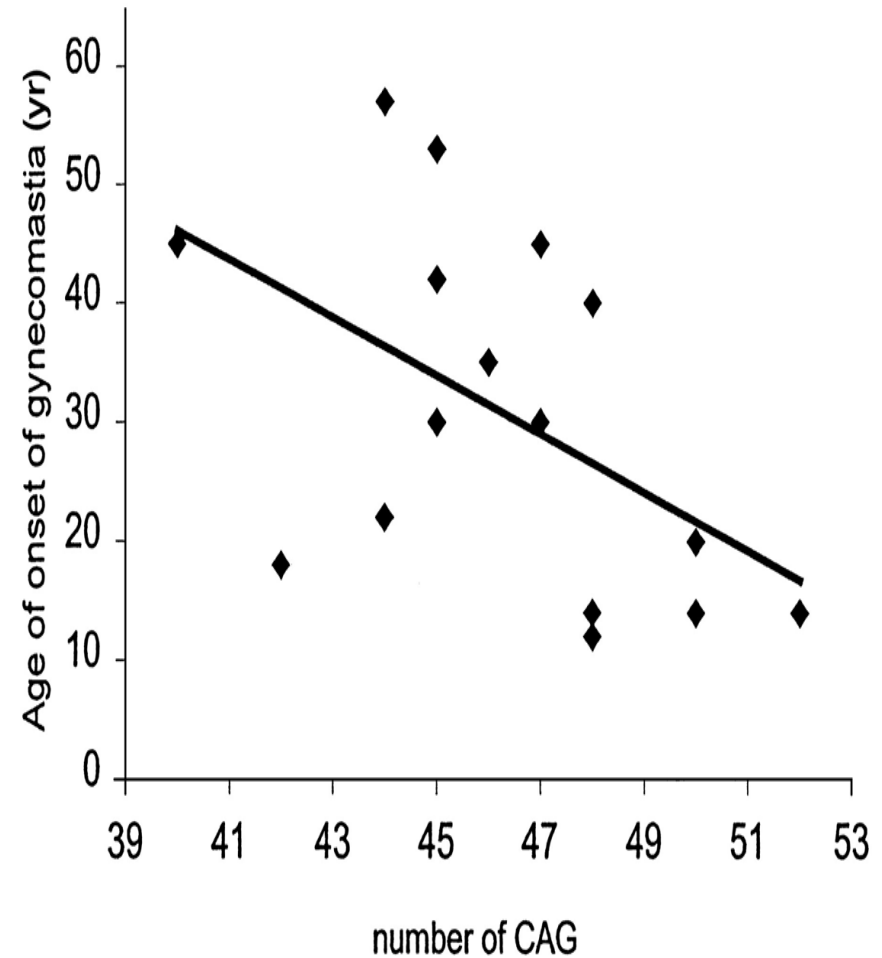
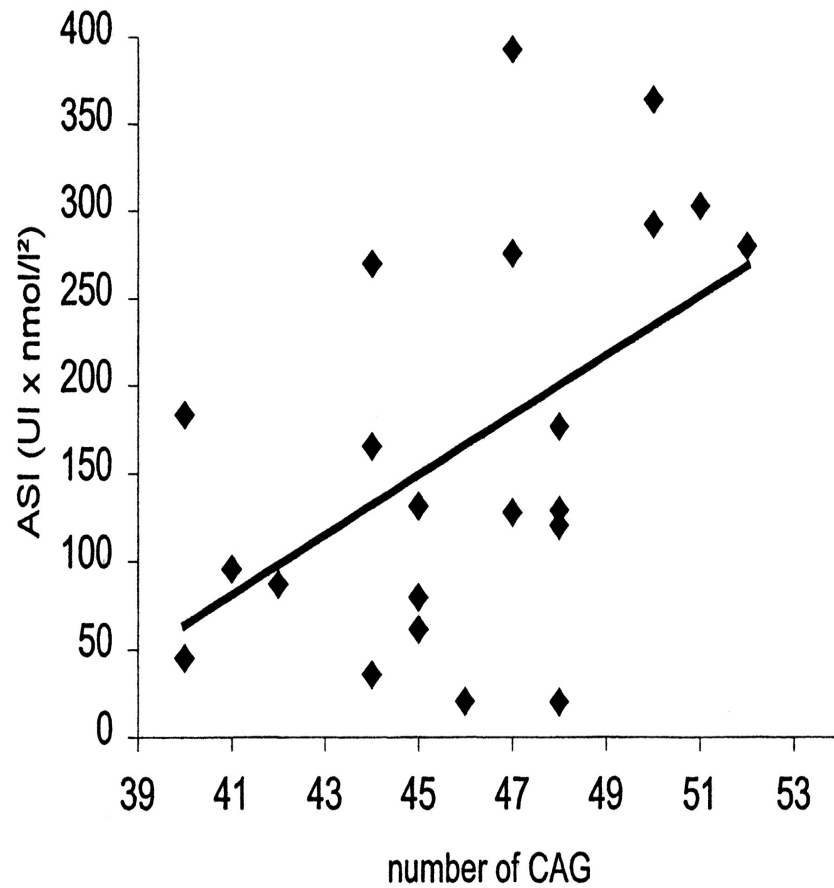
Location of intron mutations

## AR-CAG σε άνδρες υποψηφίους για ICSI

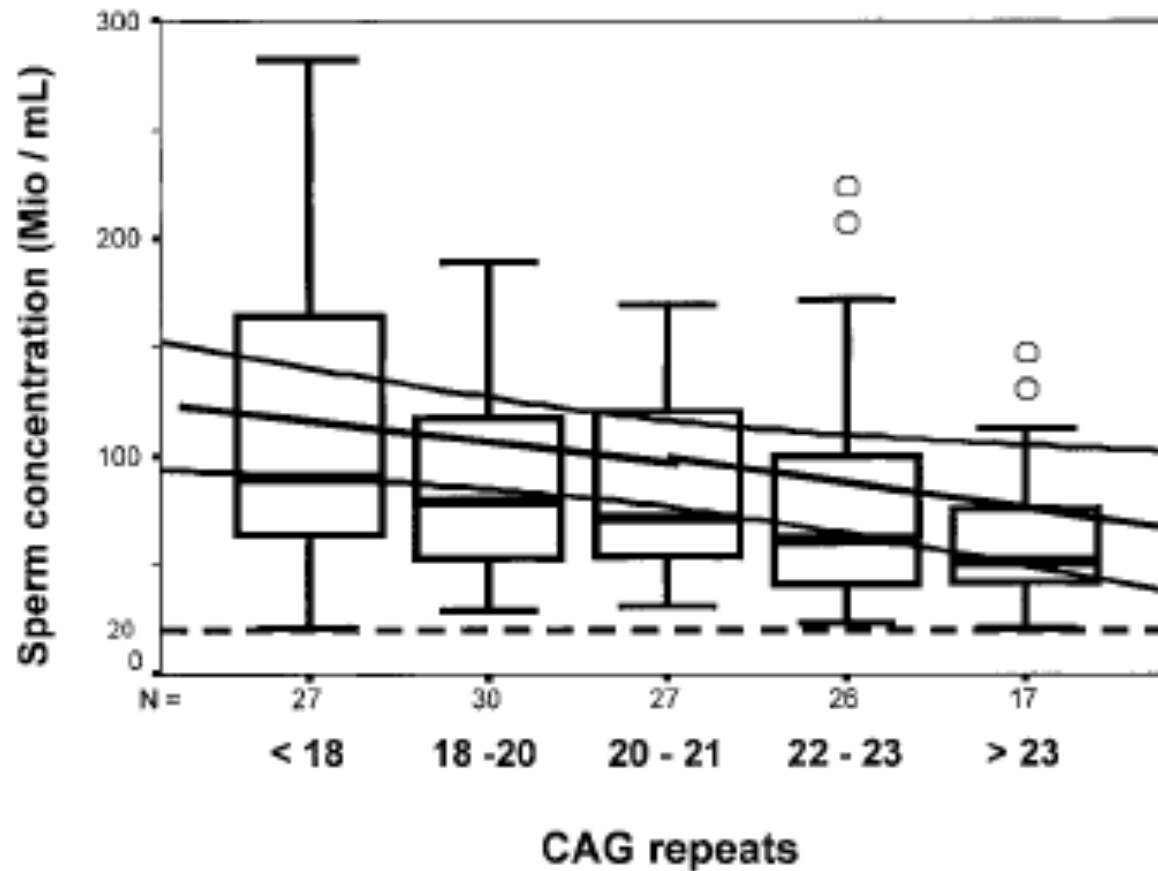
- $23.25 \pm 2.7$  vs  $22.42 \pm 2.8$   $p < 0.03$
- $>22/23$  CAG  $2.2$  σχετικός κίνδυνος για αζωοσπερμία
- $>26$  CAG  $4.1$  σχετικός κίνδυνος για αζωοσπερμία

Mengual et al 2002

# CAG επαναλήψεις σε ασθενείς με νόσο του Kennedy



# Αριθμός επαναλήψεων AR-CAG και συγκέντρωση σπερματοζωαρίων





# AR-CAG σε υπογοναδικούς άνδρες που υποβάλλονται σε υποκατάσταση με Testosterone

- < 20 CAG vs >20 CAG
- 8.7 odds ratio για την αύξηση του όγκου του προστάτη >30ml

Zitman et al 2003

## AR-CAG συσχέτιση με ιστολογικά ευρήματα

- Median 23 repeats in **hypospermatogenesis**
- Median 21 repeats in **controls** ( $p < 0.03$ )
- Average 21 repeats in **whites**
- Average 18 repeats in **blacks**
- Average 22 repeats in **asians**
- (Roberto et al 2003)

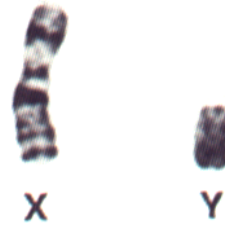
# *X-linked ανδρική υπογονιμότητα*

- Άλλες διαταραχές σχετιζόμενες με το χρωμόσωμα X
- Στο χρωμόσωμα X εντοπίζεται μεγάλος αριθμός γονιδίων με ειδική η αυξημένη έκφραση στους όρχεις, ιδιαίτερα γονίδια που έχουν σχέση με τα προμειωτικά στάδια της σπερματογένεσης
- Μέχρι σήμερα λίγα από αυτά έχουν ελεγχθεί σε μικρές ομάδες ασθενών χωρίς σημαντικά κλινικά αποτελέσματα
- Όμως δύο πρόσφατες μελέτες έδειξαν ανεξάρτητα η μια από την άλλη ότι το χρωμόσωμα X έχει πολύ μεγαλύτερο αριθμό ελλειμμάτων στους άνδρες με ανεπαρκή σπερματογένεση και παρουσία μόνο κυττάρων Sertoli ,σε σχέση με τους άνδρες με φυσιολογική σπερματογένεση Krausz C, et al. PLoS One 2012 & Tuttelmann F, et al. PLoS One 2011

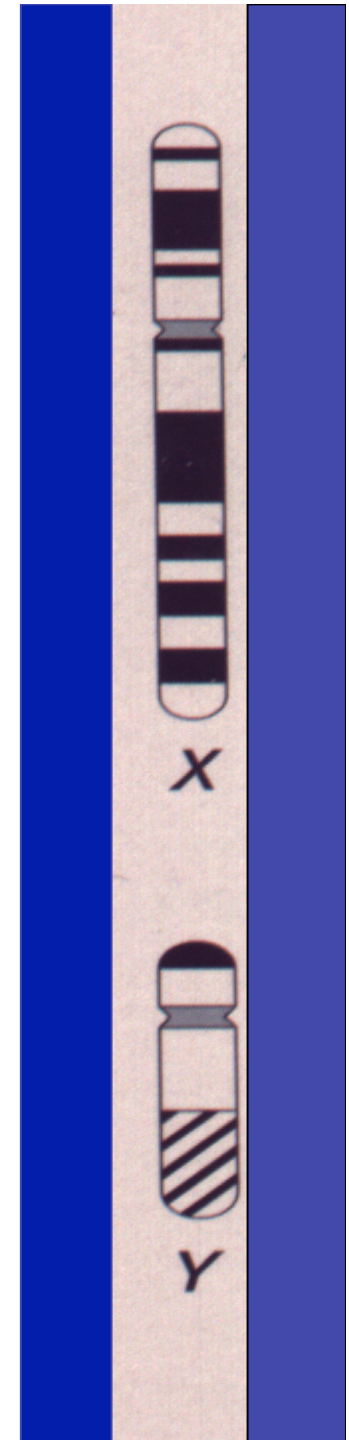
# Ανωμαλίες του χρωμοσώματος Y

- Χρωμοσωματικές  
ανωμαλίες Καρυότυπος

-μεταθέσεις, δακτυλιοειδές Y,  
δικεντρικό Yp



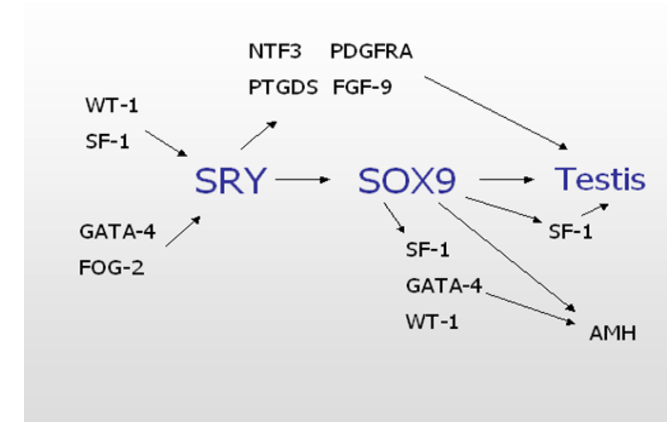
- Μικρά ελλείμματα Yq (DNA  
μοριακή διερεύνηση)





# Ανωμαλίες του χρωμοσώματος Y

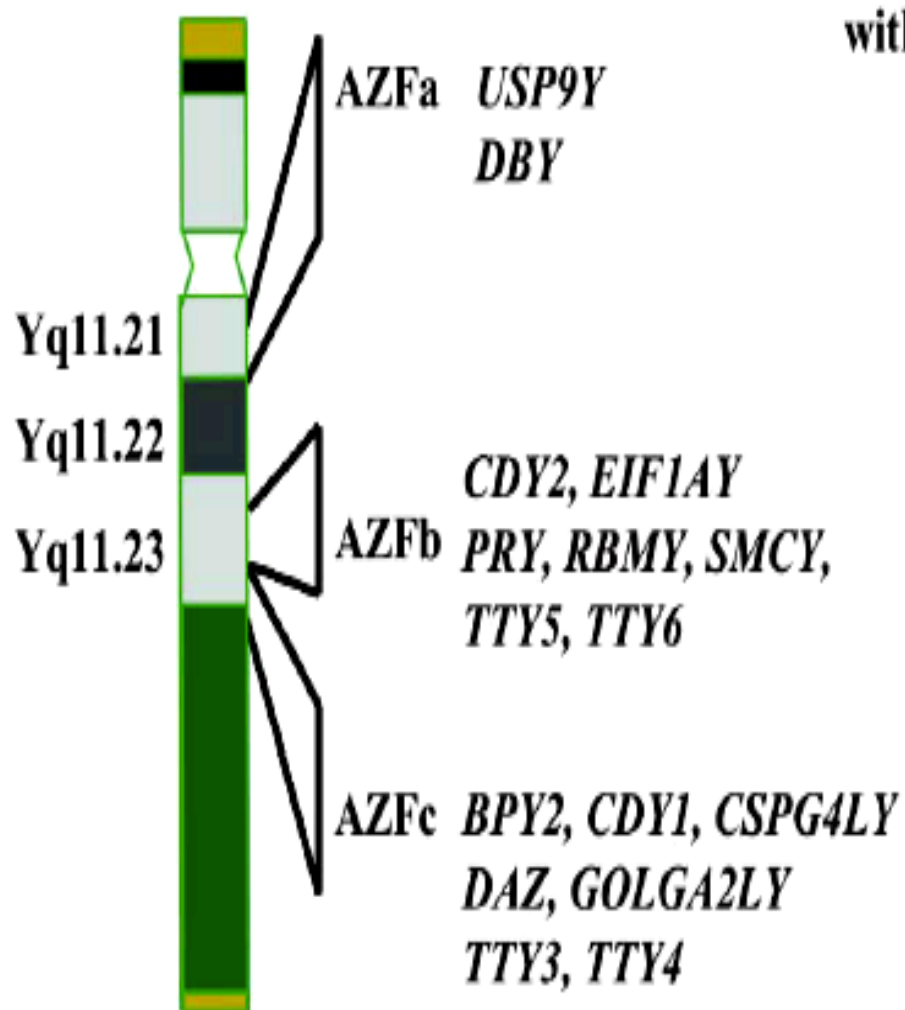
- Δομικές ανωμαλίες μεταθέσεις, δακτυλιοειδές Y, δικεντρικό Yp
- Yp περιέχει το SRY που δρά ως οργανωτής της αρχιτεκτονικής των μεταγραφικών παραγόντων για τον καθορισμό του φύλου
- 60X10<sup>6</sup> bp
- 1/1 Ευ-, Ετεροχρωματίνη
- Ψευδοαυτοσωματική
- Yq περιέχει γονίδια της σπερματογένεσης
- Μικρά ελλείμματα Yq = μοριακή διερεύνηση)



# *Y-linked* ανδρική υπογονιμότητα

- Τα μικροελλείμματα του χρωμοσώματος Y ονομάζονται **AZFa, AZFb, AZFc**
- Τα μεγάλης κλινικής σημασίας αυτά μικροελλείμματα **διαγράφουν μερικώς ή πλήρως τις μικρές χρωμοσωματικές περιοχές AZF** και είναι οι συχνότερες γενετικές αιτίες της σοβαρής **Ολιγο-Ασθενο-Τερατοσπερμίας και της Αζωοσπερμίας**
- Σε κάθε περιοχή των AZF, υπάρχουν **πολλά γονίδια που εμπλέκονται στη σπερματογένεση** Τα ελλείμματα **απαλείφουν περισσότερα από ένα γονίδια** εντός των AZF, ώστε είναι δύσκολο να εντοπιστεί ένα μοναδικό υπεύθυνο γονίδιο για τη βλάβη στη σπερματογένεση
- **Ελλείμματα που απαλείφουν ένα μοναδικό γονίδιο** έχουν αναφερθεί μόνο για τη περιοχή AZFa και αφορούν στο γονίδιο **USP9Y**
- Οι ίδιες μελέτες έδειξαν ότι **το USP9Y είναι ένας ρυθμιστής “fine tuner” της σπερματογένεσης και δεν συνιστάται ο μοριακός του έλεγχος**  
Tyler-Smith C, et al. N Engl J Med 2009

## Human Y chromosome



## Testicular histology associated with complete AZF deletions:

SCO

SMA

Variable histology:  
focal spermatogenesis  
Low sperm count  
SCO-tubules

# Η κλινική σημασία των μικροελλειμμάτων του χρωμοσώματος Y

- Δεν βρίσκονται σε νορμοσπερμικούς άρα έχουν άμεση σχέση με την ανεπάρκεια της σπερματογένεσης
- Η υψηλότερη συχνότητα τους βρίσκεται στους αζωοσπερμικούς (8-12%), και η μικρότερη στους ολιγοσπερμικούς (3-7%)
- Τα μικροελλείμματα είναι εξαιρετικά σπάνια σε συγκεντρώσεις σπερματοζωαρίων > 5 million/mL (~0.7%)
- Τα ελλείμματα του AZFc είναι τα συχνότερα (65-70%), ενώ των AZFb και AZFb +c η AZFa+b+c regions λιγότερο συχνά (25-30%). Τα ελλείμματα του AZFa είναι σπάνια (5%)
- Η πλήρης απουσία του AZFa ακολουθείται από βαρύ ορχικό φαινότυπο (Sertoli cell only syndrome), ενώ η πλήρης απουσία του AZFb σχετίζεται με στάση της σπερματογένεσης
- Η πλήρης απουσία του AZFc προκαλεί ποικίλους φαινοτύπους από αζωοσπερμία μέχρι ολιγοσπερμία
- Τα κλασσικά πλήρη ελλείμματα του AZF δεν προκαλούν κρυφορχία η καρκίνο των όρχεων



# Μοριακός γενετικός έλεγχος των ελλειμμάτων του Y

- Η ειδικότητα αλλά και η άμεση σχέση γονοτύπου / φαινοτύπου δίνουν στην μοριακή ανάλυση των ελλειμμάτων του Y **διαγνωστική και προγνωστική αξία** για το αποτέλεσμα της βιοψίας των όρχεων
- **Απόλυτη ένδειξη η μη-αποφρακτική αζωοσπερμία** και σχετική η σοβαρή ολιγοσπερμία < 3-5 million/mL.
- Κατευθυντήριες γραμμές του μοριακού γενετικού ελέγχου από **European Academy of Andrology (EAA)** και **EAA/EMQN** (European Molecular Genetics Quality Network) external quality control programme (<http://www.emqn.org/emqn/>)
- Ο έλεγχος του Yq με βάση τις οδηγίες είναι **αξιόπιστος** σε διαφορετικά εργαστήρια.
- Οι οδηγίες της **EAA** προτείνουν ένα σετ primers που μπορεί να διαγνώσει **> 95%** των ελλειμμάτων με κλινική αξία

# Ελληνική εμπειρία

- 250 Έλληνες υποψήφιοι για (ICSI): 148 με μη-αποφρακτική **αζωοσπερμία** και 102 με βαριά **ολιγοσπερμία** ( $<2 \times 10^6/\text{ml}$ ).
- Μοριακός έλεγχος σύμφωνα με τις οδηγίες της **European Academy of Andrology (EAA)**, με όριο ευαισθησίας  $>90\%$  για ανίχνευση μικροελλειμμάτων στην **AZF (Simoni et al. IJA, 2004)**.
- **5.6%** (14/250) των υπογόνιμων ασθενών με μικροελλείματα : **6.8%** (10/148) ήταν **αζωοσπερμικοί** και **3.9%** (4/102) βαριά **ολιγοσπερμικοί**.
- Όλοι με ελλείματα τουλάχιστον στην περιοχή AZFc :  
4 αζωοσπερμικοί με ελλείματα στην AZFb και  
1 με πλήρες έλλειμα της AZF (a,b,c).

# Γενετική συμβουλευτική για τα μικροελλείμματα AZF

- Μετά τη γονιμοποίηση τα ελλείμματα μεταφέρονται υποχρεωτικά στα αγόρια και για αυτό είναι απαραίτητη η γενετική συμβουλευτική
- Στις περισσότερες περιπτώσεις πατέρας και γιός έχουν το ίδιο έλλειμμα όμως μπορεί ο γιός να αποκτήσει ένα μεγαλύτερο έλλειμμα Patsalis PC, et al. Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. Lancet 2002
- Η βαρύτητα της ανεπάρκειας της σπερματογένεσης (αζωοσπερμία η σοβαρή OAT) δεν μπορεί να προβλεφθεί στο γιό λόγω διαφορετικού γενετικού και περιβαλλοντικού υποστρώματος
- Ένα σημαντικό ποσοστό των σπερματοζωαρίων από άνδρες με πλήρες έλλειμμα του AZFc δεν έχουν φυλετικά χρωμοσώματα με πιθανό κίνδυνο για απογόνους με σύνδρομο 45,X0 Turner και άλλες φαινοτυπικές ανωμαλίες που σχετίζονται με τα φυλετικά χρωμοσώματα . Όμως τα περισσότερα παιδιά από πατέρες με ελλείμματα του Yq είναι φυσιολογικά
- Στα αγόρια από πατέρες με ελλείμματα του Y συνιστάται μακρόχρονη παρακολούθηση της γονιμότητας και κατάψυξη σπερματοζωαρίων σε νεαρή ηλικία

# Χρωμόσωμα Υ: το έλλειμμα 'gr/gr'

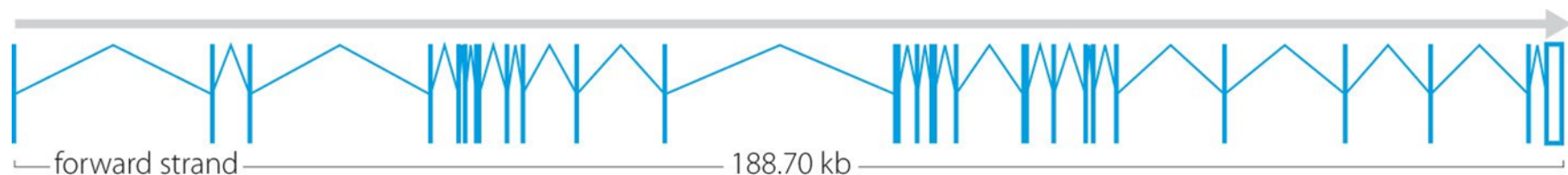
- Ένας νέος τύπος ελλείματος στο Υq γνωστός ως **gr/gr** βρίσκεται στο **AZFc region** και απαλείφει το μισό AZFc και τα πολλαπλά αντίγραφα των γονιδίων της περιοχής .
- Αυτό το έλλειμμα **αυξάνει κατά 2.5-8 φορές** το κίνδυνο ολιγοσπερμίας και η συχνότητά του στους ολιγοσπερμικούς είναι **~4%**.
- Σε 4 μετα-αναλύσεις το έλλειμμα gr/gr είναι σημαντικός **παράγοντας μείωσης του αριθμού των σπερματοζωαρίων** [Stouffs K, et al. What about gr/gr deletions and male infertility? Systematic review and meta-analysis. Hum Reprod Update 2011](#)
- Η συχνότητα του ελλείματος και ο φαινότυπος διαφέρουν **ανάλογα με τη φυλή** ; σε ορισμένους πληθυσμούς δεν επιφέρει καμιά αλλαγή στη σπερματογένεση
- Για τη γενετική συμβουλευτική είναι σημαντικό ότι τα μερικά **ελλείματα του AZFc (gr/gr και b2/b3)** μπορεί να προκαλέσουν **πλήρες έλλειμμα στην επόμενη γενιά**

## Αυτοσωματικές γονιδιακές ανωμαλίες με βαρύ φαινότυπο και υπογονιμότητα

- Πολλές κληρονομούμενες διαταραχές σχετίζονται με με γενικευμένους φαινοτύπους και υπογονιμότητα
- Μεταξύ αυτών τα σύνδρομα, Prader-Willy, Bardet-Biedl, Noonan's, η Μυοτονική Δυστροφία, Ινοκυστική νόσος, αυτοσωματική επικρατής πολυκυστική νόσος των νεφρών, η ανεπάρκεια της 5  $\alpha$ -reductase κλπ.
- Οι πάσχοντες έχουν συνήθως ιατρικό ιστορικό από τη παιδική τους ηλικία
- Το πρόβλημα της γονιμότητας αντιμετωπίζεται ανάλογα με την ικανότητα των πασχόντων να φροντίσουν ένα παιδί

# Αποφρακτική αζωοσπερμία

- 1-2% των υπογόνιμων ανδρών
- ~90% των περιπτώσεων οφείλονται σε 1 ή 2 μεταλλάξεις του γονιδίου CFTR της ινοκυστικής νόσου
- >3-4% φορείς ινοκυστικής νόσου στο γενικό πληθυσμό
- Δυνατή η αναρρόφηση σπερματοζωαρίων από την επιδιδυμίδα ή τους όρχεις και ICSI



# Αποφρακτική αζωοσπερμία : Ρόλος του λειτουργικού πολυμορφισμού 5T του γονιδίου της ινοκυστικής νόσου

<i>DNA πολυμορφισμοί στο ιντρόνιο 8</i>	<i>ΠΟΣΟΣΤΟ ΚΑΝΟΝΙΚΟΥ CFTR</i>
9T/9T	100%
9T/7T	80%
7T/7T	60%
9T/5T	40%
7T/5T	20%
5T/5T	8-12%

## **ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΑΠΟΚΤΗΣΗ ΠΑΙΔΙΟΥ ΜΕ ΙΝΟΚΥΣΤΙΚΗ ΝΟΣΟ**

*Απαραίτητος ο έλεγχος της  
συντρόφου για μεταλλάξεις του  
CFTR όταν ο σύζυγος έχει  
αποφρακτική αζωοσπερμία*

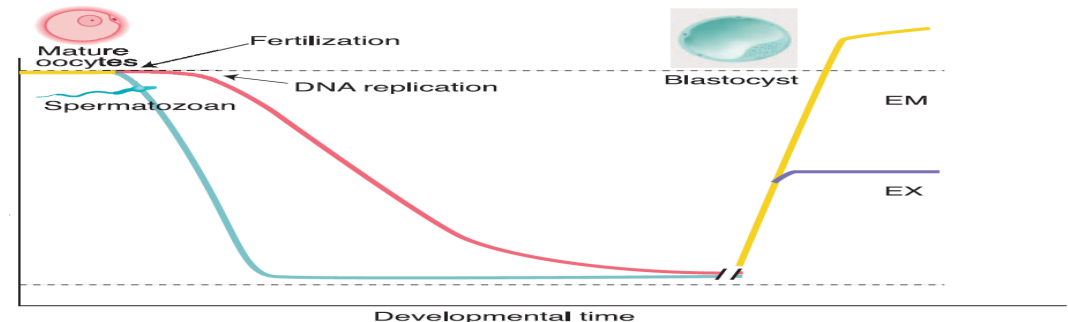
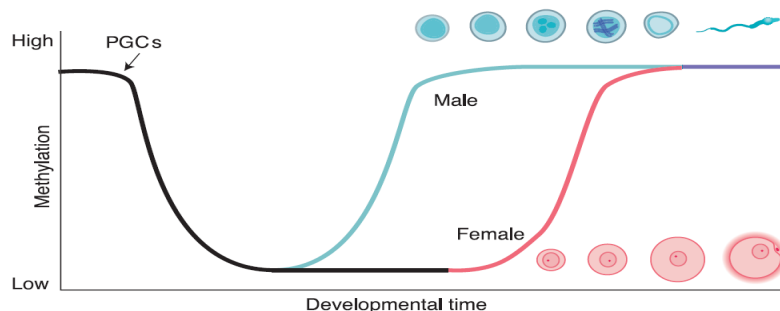
		1: 35000
-DONOR	-VE RECEPIENT	1:38000 vs 1:357000

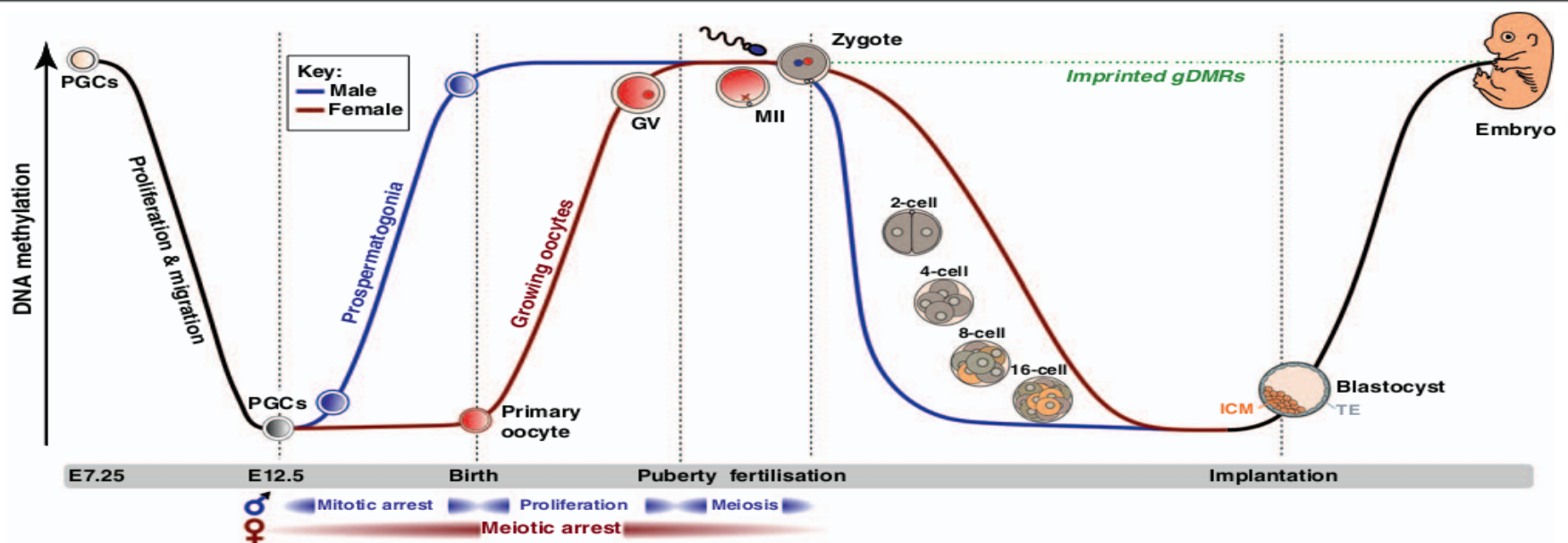




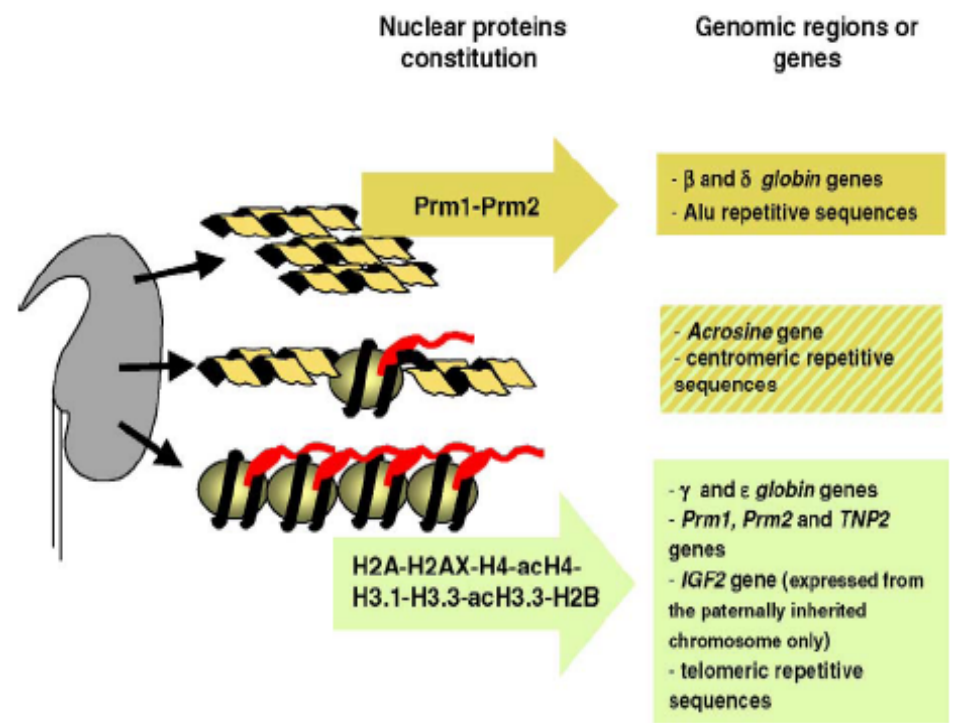
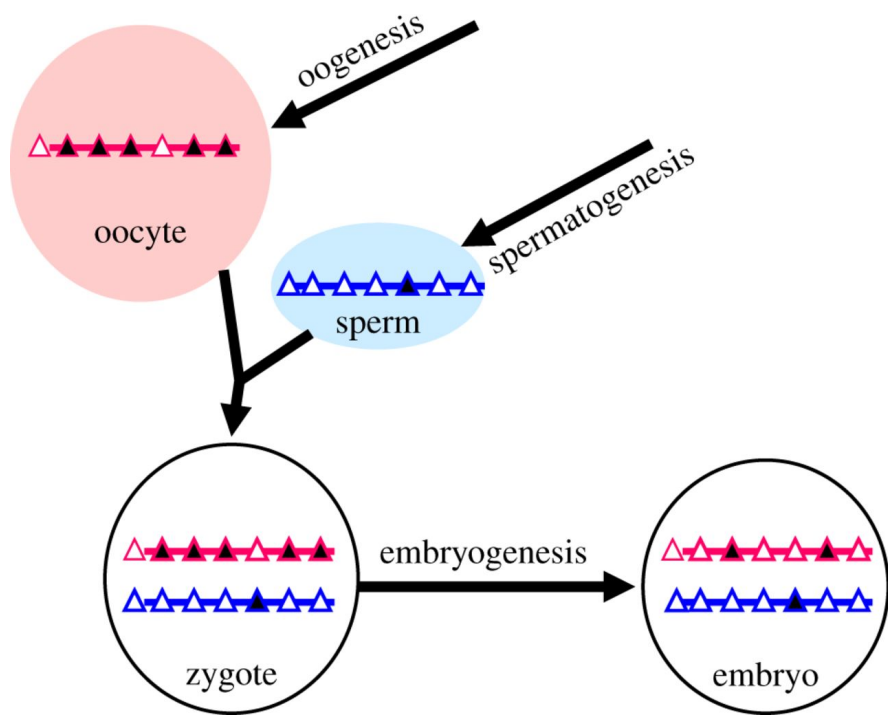
# Προέλευση των Γενετικών Ανωμαλιών

- Ωάρια : Τα μακροβιότερα κύτταρα του ανθρώπου-μεγάλη καθυστέρηση από την 1η έως την ολοκλήρωση της 2ης μείωσης
- Σπερματοζωάρια : Οξειδωτικό στρες- ανωμαλίες της μείωσης - συσχέτιση χρωμοσωματικών ανωμαλιών και ανώμαλης μορφολογίας
- Γονιμοποίηση : Πολυσπερμία-Πολυπλοειδία
- Έμβρυα : Ανωμαλίες των πρώτων μιτωτικών διαιρέσεων - Μωσαϊκισμός





TRENDS in Genetics



Προτεινόμενος γενετικός έλεγχος στην ανδρική υπογονιμότητα (αζωοσπερμία-σοβαρή ολιγοσπερμία <math><10 \times 10^6</math>)

- **Καρυότυπος** (πριν από την έναρξη της θεραπείας)
- **Μικροελλείματα του Υ** (πριν από την έναρξη της θεραπείας σε μη αποφρακτικές αζωοσπερμίες)
- **CFTR** (πριν από την έναρξη της θεραπείας σε αποφρακτικές αζωοσπερμίες)
- **KAL 1** (σε υπογοναδοτροφικό υπογοναδισμό)
- **AR** (σε περιπτώσεις υψηλού ASI)
- **5 α- αναγωγή 2** (σε επιλεγμένες περιπτώσεις)
- **Ανευπλοειδίες σπερματοζωαρίων με FISH** (μετά από ακτινο- ή χημειοθεραπεία)

# Συμπεράσματα

- Η εφαρμογή της ICSI σε περιπτώσεις ανδρικής υπογονιμότητας θα πρέπει να γίνεται σε συνδυασμό με **γενετική καθοδήγηση και γενετικό έλεγχο** για τον αποκλεισμό ή την επιβεβαίωση κληρονομούμενων γενετικών ανωμαλιών
- Θα πρέπει να γίνεται **μελέτη των υπογόνιμων ζευγαριών** για την ανίχνευση χρωμοσωματικών ή άλλων γενετικών ανωμαλιών
- Ένας σημαντικός αριθμός υπογόνιμων ζευγαριών μπορεί να **επωφεληθεί από τη σύγχρονη εφαρμογή ICSI και PGD.**