



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

**«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**« Διερεύνηση των παραγόντων που επηρεάζουν τις παραμέτρους του  
σπέρματος »**

ΜΠΟΥΛΙΜΑΡΗ ΙΩΑΝΝΑ

ΙΑΤΡΟΣ

ΛΑΡΙΣΑ

Σεπτέμβριος 2012

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΩΑΝΝΗΣ Ε. ΜΕΣΣΗΝΗΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Κ. Νταφόπουλος, Επικ.καθηγητής

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή :

Η. Ζιντζαράς, Αναπληρωτής καθηγητής

Γ. Ανυφαντής, Λέκτορας

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## 1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

1.2 ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΥΜΦΩΝΑ  
ΜΕ ΤΟΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΥΓΕΙΑΣ 2010

1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ  
ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

## 2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΣΚΟΠΟΣ

2.2 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

2.6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1.1 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

Το σπέρμα αποτελεί ένα μείγμα σπερματοζωαρίων και σπερματικού πλάσματος. Ανακαλύφθηκε από τον Leeuwenhoek τον 17<sup>ο</sup> αιώνα, αλλά δεν ήταν πριν το 1928, όπου οι παράμετροι του σπέρματος συσχετίστηκαν με τη γονιμότητα.

Οι MacLeod (1942), MacLeod and Gold (1953), Eliasson (1971) and Hellinga (1949,1976) ήταν οι πρώτοι που σχεδίασαν και εφήρμοσαν μεθόδους ανάλυσης-επεξεργασίας του σπέρματος.

Το σπέρμα έχει δυο βασικά ποσοτικά χαρακτηριστικά :

- ✓ Τον ολικό αριθμό των σπερματοζωαρίων που αντικατοπτρίζει την λειτουργία των όρχεων και την βατότητα της εκφορητικής οδού του σπέρματος.
- ✓ Τον συνολικό όγκο του σπέρματος που αντιπροσωπεύει την εκκριτική λειτουργία των παραγεννητικών αδένων.

Τα χαρακτηριστικά των σπερματοζωαρίων όπως είναι η κινητικότητα, η ζωτικότητα και η μορφολογία καθώς επίσης και η σύσταση του σπερματικού πλάσματος είναι εξίσου σημαντικού για την λειτουργία του σπέρματος.

Μια τυπική ανάλυση σπέρματος περιλαμβάνει εκτίμηση συγκεκριμένων παραμέτρων όπως

- Ρευστότητα – Ιξώδες
- Όγκο
- Συγκέντρωση
- Κινητικότητα
- Μορφολογία καθώς και
- Ποσοτικοποίηση και αναγνώριση μη-σπερματικών κυττάρων και την ανίχνευση αντισπερματικών αντισωμάτων

### Συλλογή του δείγματος

Το δείγμα συλλέγεται με αυνανισμό μετά από 2 έως 7 ημέρες σεξουαλικής αποχής. Η συλλογή του δείγματος πρέπει να γίνεται σε χώρο δίπλα στο εργαστήριο προκειμένου να προστατευθεί το σπέρμα από τις ακραίες θερμοκρασίες και να ελαχιστοποιηθεί και ο χρόνος μεταφοράς του στο εργαστήριο (1). Θα πρέπει να αναγράφεται το όνομα του ανδρός, οι μέρες αποχής και η ώρα της εκσπερμάτισης. Αν η αποχή είναι μικρότερη από 48 ώρες τότε η συγκέντρωση του δείγματος μειώνεται κατακόρυφα ενώ η κινητικότητα του δείγματος μπορεί να μην επηρεαστεί. Αντίθετα μετά από 7 ημέρες αποχής η συγκέντρωση αυξάνεται και η κινητικότητα του δείγματος μειώνεται. Το

πρώτο τμήμα της εκσπερμάτισης περιέχει τον μεγαλύτερο αριθμό σπερματοζωαρίων σε αντίθεση με τα τελευταία τμήματα που κυρίως αποτελούνται από εκκρίσεις των σπερματοδόχων κύστεων. Έτσι είναι πολύ σημαντικό το δείγμα σπέρματος να είναι ακέραιο και να μην χαθεί το πρώτο τμήμα της εκσπερμάτισης. Άλλοι τρόποι συλλογής του δείγματος όπως η διακεκομμένη συνουσία δεν ενδείκνυται γιατί υπάρχει ο κίνδυνος να χαθεί το πρώτο τμήμα της εκσπερμάτισης που περιέχει τον μεγαλύτερο αριθμό σπερματοζωαρίων. Επιπλέον μπορεί να συμβεί κυτταρολογική και βακτηριολογική επιμόλυνση του δείγματος και το όξινο pH του κόπλου να επηρεάσει αρνητικά την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων. Σε εξαιρετικές περιπτώσεις, όπως αδυναμία παραγωγής σπέρματος με αυνανισμό, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ειδικά μη τοξικά προφυλακτικά κατά την διάρκεια της επαφής και το δείγμα θα πρέπει μέσα σε μία ώρα να μεταφερθεί στο χώρο του εργαστηρίου.

Μακροσκοπική εκτίμηση του δείγματος γίνεται περίπου 30 λεπτά και όχι περισσότερο από μια ώρα μετά την συλλογή του. Η αρχική εκτίμηση του δείγματος περιλαμβάνει τον χρόνο ρευστοποίησης, το ιξώδες και το χρώμα του δείγματος. Ένα φυσιολογικό δείγμα σπέρματος έχει γκρίζο – κίτρινη εμφάνιση και ρευστοποιείται εντός 1 ώρας σε θερμοκρασία δωματίου. Αν η ρευστοποίηση δεν λαμβάνει χώρα εντός 1 ώρας, αυτό πρέπει να καταγράφεται γιατί υποδηλώνει λειτουργικές ανωμαλίες του προστάτη. Ένα φυσιολογικό δείγμα σπέρματος μπορεί να περιέχει jelly-like κομμάτια, τα οποία δεν φαίνεται να έχουν καμία κλινική σημασία. Το ιξώδες ρευστοποιημένων δειγμάτων μπορεί να εκτιμηθεί με την προσεκτική αναρρόφηση δείγματος σε 5 ml σύριγγα αφήνοντας στη συνέχεια το δείγμα να πέσει σταγόνα-σταγόνα από τη βελόνα. Τα φυσιολογικά δείγματα δημιουργούν ευδιάκριτες σταγόνες, ενώ ένα δείγμα μη-φυσιολογικό με αυξημένο ιξώδες θα δημιουργήσει threads μεγαλύτερες των 2 cm. Αυξημένο ιξώδες έχει την ίδια κλινική σημασία, όπως και η ανώμαλη ρευστοποίηση και συσχετίζεται με την προστατική δυσλειτουργία μετά από χρόνια μόλυνση. Αυξημένο ιξώδες μπορεί να εμποδίσει την σωστή μέτρηση της κινητικότητας και της συγκέντρωσης του δείγματος. Αν το δείγμα εμφανίζεται πολύ διαυγές αυτό μπορεί να σχετίζεται με ελαττωμένη συγκέντρωση.

### Όγκος σπέρματος

Το 90% του σπερματικού όγκου αποτελείται από εκκρίσεις των παραγεννητικών αδένων και κυρίως του προστάτη και των σπερματοδόχων κύστεων και σε πολύ μικρότερο ποσοστό από εκκρίσεις των βολβοουρηθραίων αδένων του Cowper's και της επιδιδυμίδας (1). Η μέτρηση του όγκου του δείγματος γίνεται αναρροφώντας σε μία σύριγγα ή σε μία πιπέτα. Ωστόσο με την μέθοδο αυτή είναι πιθανόν να χαθούν 0,3 – 0,9 ml του δείγματος. Για τον λόγο αυτό η πιο αξιόπιστη μέθοδος για τον υπολογισμό του όγκου είναι να ζυγιστεί το κύπελλο μόνο του αρχικά και στην συνέχεια μαζί με το δείγμα και τέλος να γίνει ο προσδιορισμός υποθέτοντας ότι η

πυκνότητα του δείγματος είναι 1gr/ml. Εναλλακτικά μπορεί να εκτιμηθεί άμεσα σε ένα τροποποιημένο διαβαθμισμένο κύλινδρο με μεγάλο στόμιο. Υπολογίζουμε απευθείας τον όγκο (με απόκλιση 0.1ml). Χαμηλός όγκος είναι δυνατόν να συνδέεται με απόφραξη της εκφορητικής οδού του σπέρματος, μη ακέραιο δείγμα ή και μερική παλινδρόμηση (2). Αντίθετα υψηλός όγκος μπορεί να παρατηρηθεί σε περιπτώσεις ενεργής φλεγμονής των παραγεννητικών αδένων.

### pH

Το pH του δείγματος εκφράζει την ισορροπία μεταξύ των όξινων εκκρίσεων του προστάτη αδένου και των αλκαλικών εκκρίσεων των σπερματοδόχων κύστεων. Το pH θα πρέπει να υπολογίζεται μέσα σε μια ώρα από την συλλογή του δείγματος. Αν το pH του δείγματος είναι < 7 και συνδυάζεται με χαμηλό όγκο και χαμηλή συγκέντρωση τότε είναι πιθανή απόφραξη της εκφορητικής οδού του σπέρματος ή ακόμα και συγγενής αμφοτερόπλευρη απώλεια των σπερματικών πόρων (CBAVD). Η τιμή του pH του δείγματος αυξάνει όσο περνά η ώρα και αυτό οφείλεται στην απώλεια CO<sub>2</sub>, για αυτό και εκτίμηση του δείγματος μετά από μια ώρα μπορεί να μην έχει κλινική σημασία.

### Συγκέντρωση σπέρματος

Η συγκέντρωση του σπέρματος και ο ολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων συνδέονται και τα δυο με τα ποσοστά κίνησης και με το χρόνο μέχρι την σύλληψη (3) αποτελώντας επίσης προγνωστικούς παράγοντες της σύλληψης (4). Η συγκέντρωση του δείγματος αναφέρεται στον αριθμό των σπερματοζωαρίων που απελευθερώνονται κατά την εκσπερμάτιση ανά μονάδα όγκου του δείγματος. Ο ολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων προκύπτει πολλαπλασιάζοντας την συγκέντρωση με τον όγκο του δείγματος. Όταν δεν υπάρχει κάποια απόφραξη στην εκφορητική οδό του σπέρματος και η περίοδος σεξουαλικής αποχής είναι 2-7 ημέρες τότε ο ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων συνδέεται με τον σπερματικό όγκο και εκφράζει την ικανότητα των όρχεων να παράγει σπερματοζωάρια και την βατότητα της εκφορητικής οδού (5). Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης γίνεται ως εξής : αφού αναδεύσουμε το δείγμα του σπέρματος, τοποθετούμε με την πιπέτα 10λ πάνω στο Mackler chamber που φέρει 100 τετραγωνάκια και καλύπτεται με συγκεκριμένη καλυπτρίδα. Το δείγμα εξετάζεται σε 25x μεγέθυνση και μετρώντας τον αριθμό των σπερματοζωαρίων σε 10 από αυτά τα τετραγωνάκια (οριζόντια ή κάθετα) βρίσκουμε την συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων σε 10<sup>6</sup>/ ml.

### Κινητικότητα σπέρματος

Η κινητικότητα του σπέρματος φαίνεται ότι συνδέεται με τα ποσοστά κύησης (3). Η κινητικότητα του σπέρματος θα πρέπει να εκτιμάται όσο το δυνατόν πιο γρήγορα μετά την ρευστοποίηση του δείγματος και πιο συγκεκριμένα μέσα σε 1 ώρα από την εκσπερμάτιση προκειμένου να ελαχιστοποιήσουμε τον κίνδυνο αλλαγής της παραμέτρου αυτής από την αφυδάτωση και τυχόν αλλαγές του pH ή της θερμοκρασίας. Τα τελευταία χρόνια ένας αριθμός από διάφορες τεχνικές έχουν αναπτυχθεί προκειμένου να υπάρχει αντικειμενική εκτίμηση των χαρακτηριστικών ενός δείγματος σπέρματος, όπως για παράδειγμα το computer-assisted semen analysis (CASA). Σήμερα, η κλασική μέθοδος ανάλυσης του σπέρματος θεωρείται ως η πιο αξιόπιστη μέθοδος. Για τον υπολογισμό της κινητικότητας του δείγματος αφού αναδεύσουμε καλά το δείγμα, με την πιπέτα αναρροφούμε 10μl σπέρματος και το τοποθετούμε στο Makler sperm-count chamber. Η κινητικότητα του σπέρματος υπολογίζεται μετρώντας 100 σπερματοζώαρια 2 φορές στο οπτικό μικροσκόπιο με μεγέθυνση 25x – 40x. Αν υπάρχει διαφορά πάνω από 10% μεταξύ των δυο μετρήσεων τότε γίνεται και τρίτη μέτρηση και η κινητικότητα υπολογίζεται ως ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων.

Κατηγορίες κίνησης :

- Προωθητική κινητικότητα : σπερματοζώαρια που κινούνται είτε ευθύγραμμα είτε σε μεγάλους κύκλους ανεξάρτητα από την ταχύτητα τους.
- Μη προωθητική κινητικότητα : περιλαμβάνει όλα τα υπόλοιπα είδη κίνησης όπως επιτόπια κίνηση σε μικρούς κύκλους, κίνηση της κεφαλής ή της ουράς χωρίς να κινείται το υπόλοιπο τμήμα του σπερματοζωαρίου.
- Ακίνησια : καμία κίνηση δεν παρατηρείται.

Η προηγούμενη έκδοση του WHO πρότεινε να κατατάσσεται η προωθητική κινητικότητα των σπερματοζωαρίων σε ταχεία και αργή. Ως ταχεία κίνηση θεωρείται η προωθητική κίνηση με ταχύτητα  $> 20\mu\text{m}/\text{sec}$  στους  $37^{\circ}\text{C}$  (grade a). Στον υπολογισμό της κινητικότητας εκτιμώνται μόνο τα μορφολογικά ακέραια σπερματοζώαρια, καθώς μόνο αυτά υπολογίζονται και στην συγκέντρωση του δείγματος.

### Μορφολογία

Ο προσδιορισμός της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων είναι μεγάλης σημασίας. Κατά τον προσδιορισμό της μορφολογίας υπολογίζονται μόνο εκείνα τα σπερματοζώαρια τα οποία είναι ακέραια καθώς μόνο αυτά υπολογίζονται και στην συγκέντρωση του σπέρματος. Ελαττωματική σπερματογένεση και παθολογικές καταστάσεις που αφορούν την επιδιδυμίδα συνδέονται με σπερματοζώαρια ανώμαλης μορφολογίας. Μη φυσιολογικά σπερματοζώαρια έχουν μειωμένη γονιμοποιητική ικανότητα και συνήθως περιέχουν ελαττωματικό DNA. Οι μορφολογικές ανωμαλίες



περιλαμβάνουν αυτές της κεφαλής, του αυχένα, της ουράς καθώς και κυτταροπλασματικά υπολείμματα.

### Ζωτικότητα

Η ζωτικότητα του σπέρματος όπως εκτιμάται από την ακεραιότητα της μεμβράνης των σπερματοζωαρίων είναι αναγκαία σε δείγματα με < 40% προωθητική κίνηση. Είναι κλινικά σημαντικό να υπολογίσουμε το ποσοστό των νεκρών σπερματοζωαρίων και το αντίστοιχο των ακίνητων σπερματοζωαρίων. Η ζωτικότητα των σπερματοζωαρίων εκτιμάται με το dye test ή με την τοποθέτηση σε υποωσμωτικό διάλυμα.

Η αρχή του dye test στηρίζεται στο ότι σπερματοζωάρια νεκρά με κατεστραμμένες κυτταρικές μεμβράνες επιτρέπουν την είσοδο της χρωστικής. Συγκεκριμένα 10λ σπέρματος με 5λ χρωστικής ανακατεύονται και τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα. Επιάζονται σε κλίβανο 5 -10 λεπτά και στην συνέχεια παρατηρούνται στο μικροσκόπιο. Τα σπερματοζωάρια που απορροφούν την χρωστική θεωρούνται νεκρά ενώ σπερματοζωάρια που δεν απορροφούν την χρωστική θεωρούνται ζωντανά με ακεραιές κυτταρικές μεμβράνες.

Αντίδραση των σπερματοζωαρίων σε υποωσμωτικό διάλυμα (Hypo-osmotic swelling test) : 100λ από το δείγμα του σπέρματος αναμειγνύονται με 900λ υποωσμωτικού διαλύματος 150 mOsm/kg. Το μείγμα επιάζεται στους 37<sup>0</sup>C για 45 λεπτά. Μετά σε αντικειμενοφόρες πλάκες τοποθετούνται 10λ του μείγματος και υπολογίζεται ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που έχουν ίσες και κατσαρές ουρές (curled). Σπερματοζωάρια με ίσες ουρές θεωρούνται νεκρά ενώ σπερματοζωάρια με κατσαρές ουρές είναι ζωντανά και μαλιστά έτοιμα να πραγματοποιήσουν την ακροσωμική αντίδραση.

### Συγκολλήσεις

Οι συσσωματώσεις αναφέρονται στην προσκόλληση ακίνητων σπερματοζωαρίων μεταξύ τους είτε στην προσκόλληση κινητών σπερματοζωαρίων με βλέννη, με βρωμίες ή με άλλα κύτταρα που μπορεί να βρίσκονται στο σπέρμα. Οι συγκολλήσεις αναφέρονται σε κινητά σπερματοζωάρια τα οποία κολλάνε μεταξύ τους με 3 διαφορετικούς τρόπους κεφαλή-κεφαλή, ουρά-ουρά ή κεφαλή-ουρά. Η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων πολλές φορές είναι νευρική σε σημείο που μπορεί να ακινητοποιηθούν τα σπερματοζωάρια. Αναφέρονται 4 βαθμοί συγκολλήσεων:

- Βαθμός 1: απομονωμένα (<10 σπερματοζωάρια σε κάθε συγκόλληση)
- Βαθμός 2: μέτρια (10-50 σπερματοζωάρια σε κάθε συγκόλληση)
- Βαθμός 3: μεγάλη (>50 σπερματοζωάρια σε κάθε συγκόλληση)

- Βαθμός 4: παθολογική (όλα τα σπερματοζωάρια είναι συγκολλημένα και κάθε συγκόλληση ενώνεται με τις άλλες.)

Η παρουσία συγκολλήσεων μπορεί να εμποδίζει την σωστή εκτίμηση της κινητικότητας και της συγκέντρωσης του δείγματος. Τέλος η παρουσία συγκολλήσεων είναι ενδεικτική της παρουσίας αντισπερματικών αντισωμάτων αλλά απαιτείται περισσότερη έρευνα.

#### Κυτταρικά στοιχεία εκτός σπερματοζωαρίων

Η εκσπερμάτιση ενδέχεται να περιέχει και άλλα κύτταρα εκτός των σπερματοζωαρίων η παρουσία των οποίων μπορεί να έχει κλινική σημασία. Για παράδειγμα επιθηλιακά κύτταρα του ουρογεννητικού επιθηλίου, λευκοκύτταρα ή ανώριμα γεννητικά κύτταρα.

#### Ανοσολογικός έλεγχος σπέρματος

Για τον προσδιορισμό των αντισπερμικών αντισωμάτων χρησιμοποιούνται διάφορες δοκιμασίες οι σπουδαιότερες από τις οποίες είναι το MAR test και το Immunobead test. Το MAR test (mixed antiglobulin reaction test) καθορίζει τα αυτο-αντισώματα σε φρέσκο δείγμα σπέρματος. Η αρχή στηρίζεται στην μείξη ερυθροκυττάρων που φέρουν IgG ή IgA αντισώματα με το υπό εξέταση δείγμα σπέρματος με επακόλουθη προσθήκη αντι-IgG ή αντι-IgA. Εάν παρατηρηθεί συγκόλληση μεταξύ σπερματοζωαρίων και ερυθροκυττάρων μεγαλύτερη από 10% το δείγμα είναι θετικό για αυτο-αντισώματα. Η μέθοδος έχει μειονέκτημα σε περίπτωση που το δείγμα φέρει πολλά κινητά σπερματοζωάρια. Στο Immunobead test επωάζονται κυψελίδες με ανθρώπινα αντισώματα μαζί με το υπό εξέταση δείγμα για 30 λεπτά. Στη συνέχεια σε μικροσκόπιο αντίθετης φάσης βλέπουμε τα αποτελέσματα και διαπιστώνουμε σε ποιο τμήμα του σπερματοζωαρίου είναι προσκολλημένα τα αντισώματα. Παρότι τα κριτήρια κατά WHO περιλαμβάνουν την εκτίμηση των αντισπερματικών αντισωμάτων στα πλαίσια μιας τυπικής ανάλυσης σπέρματος, υπάρχει διχογνωμία σχετικά με το αν τελικά θα πρέπει να περιλαμβάνονται στην αρχική προσέγγιση της υπογονιμότητας. Έτσι ο προσδιορισμός των αντισπερματικών αντισωμάτων δεν θα πρέπει να αποτελεί ρουτίνα γιατί δεν υπάρχει κάποια διαθέσιμη θεραπεία που θα μπορούσε να βελτιώσει την ανδρική υπογονιμότητα.

## 1.2 ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟΝ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ ΥΓΕΙΑΣ , 2010

Υπογονιμότητα ορίζεται ως η αδυναμία επίτευξης κύησης ύστερα από 1 χρόνο ελεύθερων σεξουαλικών επαφών. Περίπου το 15% των ζευγαριών αναπαραγωγικής ηλικίας αντιμετωπίζουν προβλήματα υπογονιμότητας σήμερα. Η ανδρική υπογονιμότητα θεωρείται υπεύθυνη για το 20% περιπτώσεων ως μοναδικός παράγοντας και για το 30 - 40% ως συμπαράγοντας μαζί με την γυναικεία υπογονιμότητα (6). Ωστόσο στο 30% - 40% των περιπτώσεων η ανδρική υπογονιμότητα δεν μπορεί να αποδοθεί σε συγκεκριμένο αιτιολογικό παράγοντα και χαρακτηρίζεται ως ιδιοπαθής.

Παράγοντες που σχετίζονται με την ανδρική υπογονιμότητα και κατανομή αυτών σε 10.469 ασθενείς (7)

- Ιδιοπαθής ανδρική υπογονιμότητα (31%)
- Λοιμώξεις του ουρογεννητικού συστήματος (7,8%)
- Διαταραχές εναπόθεσης του σπέρματος στον οπίσθιο κολπικό θόλο (5,9%)
- Γενικές και συστηματικές παθήσεις (3,1%)
- Κιρσοκήλη (15,6%)
- Υπογοναδισμός 8,9%
- Ανοσολογικοί παράγοντες (4,5%)
- Αποφράξεις στην εκφορητική οδό του σπέρματος (1,7%)
- Άλλες ανωμαλίες (5,5%)

Προγνωστικοί παράγοντες για την ανδρική υπογονιμότητα (8)

- Διάρκεια της υπογονιμότητας
- Πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής υπογονιμότητα
- Αποτελέσματα του σπερμοδιαγράμματος
- Ηλικία και αναπαραγωγική ικανότητα της συντρόφου

Στα πλαίσια της διαγνωστικής προσέγγισης του υπογόνιμου ζεύγους μία από τις πιο σημαντικές εξετάσεις αποτελεί η ανάλυση του σπέρματος. Είναι πλέον κοινά αποδεκτό ότι η διαγνωστική προσέγγιση του υπογόνιμου άνδρα περιλαμβάνει το ιστορικό, την κλινική εξέταση και τουλάχιστον 2 δείγματα σπέρματος (9).

Με σκοπό να καθορίσουμε τις φυσιολογικές παραμέτρους του σπέρματος ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας έχει δημοσιεύσει το «WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction 5th edn» (1). Έτσι έχουν οριστεί οι παρακάτω τιμές αναφοράς για την προσέγγιση της ποιότητας του σπέρματος που στηρίζονται σε πληθυσμό γόνιμων ανδρών.

Οι τιμές αναφοράς της 5<sup>ης</sup> έκδοσης προήλθαν :

- Από 4500 δείγματα σπέρματος γόνιμων ανδρών που πέτυχαν κύηση σε χρονικό διάστημα <12 μήνες, σε 14 χώρες από 4 ηπείρους.
- Μόνο αναλύσεις σπέρματος από εργαστήρια που ακολουθούσαν τις οδηγίες κατά WHO.
- Η συγκέντρωση του σπέρματος υπολογίστηκε μόνο με το αιμοκυττόμετρο και η εκτίμηση της μορφολογίας έγινε με εφαρμογή αυστηρών κριτηρίων μόνο.
- Οι τιμές αναφοράς που προέκυψαν αποτελούν το 5% σημείο της κατανομής (10).

Ωστόσο το κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθορίσει τις δικές του τιμές αναφορές λόγω της μεγάλης διακύμανσης των τιμών που υπάρχουν μεταξύ των διαφόρων πληθυσμών (11).

Αν τα αποτελέσματα ενός σπερμοδιαγράμματος είναι φυσιολογικά συμφωνά με το who 2010 (1) τότε δεν χρειάζεται δεύτερη ανάλυση. Εάν όμως το πρώτο σπερμοδιάγραμμα είναι παθολογικό, τότε απαιτείται δεύτερη εξέταση, τουλάχιστον τρεις μήνες μετά την πρώτη ανάλυση. Εάν βέβαια στο πρώτο σπερμοδιάγραμμα διαπιστωθεί αζωοσπερμία ή σοβαρή ολιγοζωοσπερμία, τότε μπορεί να γίνει επανάληψη της διαδικασίας σε 2 – 4 εβδομάδες. Για την διερεύνηση της ανδρικής υπογονιμότητας είναι χρήσιμο λοιπόν να εξετάζονται 2 -3 δείγματα σπέρματος. Η ευαισθησία του σπερμοδιαγράμματος ως προς την εντόπιση της ανδρικής υπογονιμότητας ανέρχεται στο 89,7% (9 στους 10 άνδρες με παθολογικό σπέρμα ανιχνεύονται) με χαμηλή ειδικότητα ωστόσο (ένα παθολογικό σπερμοδιάγραμμα δεν σημαίνει ότι υπάρχει σίγουρα κάποια παθολογία στο σπέρμα). Επαναλαμβανόμενες αναλύσεις δειγμάτων σπέρματος είναι περισσότερο αντιπροσωπευτικές αλλά φαίνεται ότι επιβαρύνουν ψυχολογικά τον άνδρα. Μόνο μια ανάλυση σπέρματος χαρακτηρίζει το 10% περίπου των ανδρών ως υπογόνιμους. Μια επανάληψη όμως της διαδικασίας φαίνεται ότι μειώνει το ποσοστό αυτό στο 2% (12). Η αξιοπιστία των τιμών αναφοράς κατά WHO 2010, ειδικά της τιμής για την συγκέντρωση του σπέρματος, όσο αφορά στην πρόβλεψη επίτευξης κύησης είναι υπό αμφισβήτηση. Εκτός από την περίπτωση της αζωοσπερμίας, η προγνωστική αξία ενός παθολογικού σπερμοδιαγράμματος για την επίτευξη κύησης είναι περιορισμένη.

<b>ΚΑΤΩΤΕΡΑ ΟΡΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ WHO 2010</b>	
Όγκος σπέρματος (ml)	1.5 (1.4–1.7)
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων ( $10^6$ / εκσπερμάτιση)	39 (33–46)
Συγκέντρωση σπέρματος ( $10^6$ / ml)	15 (12–16)
Κινητικότητα (PR+NP%)	40 (38–42)
Προωθητική κινητικότητα (PR, %)	32 (31–34)
Ζωτικότητα (ζωντανά σπερματοζωάρια, %)	58 (55–63)
Μορφολογία σπέρματος ( φυσιολογικές μορφές, %)	4 (3.0–4.0)
pH	$\geq 7.2$
Λευκοκύτταρα ( $10^6$ /ml)	$< 1.0$
Ανοσολογικός παράγοντας	$< 50$
Ψευδάργυρος σπέρματος(μmol/εκσπερμάτιση)	$\geq 2.4$
Φρουκτόζη σπέρματος (μmol/εκσπερμάτιση)	$\geq 13$
Α-Γλυκοσιδάση σπέρματος (mU/εκσπερμάτιση)	$\geq 20$

Ορισμοί που σχετίζονται με την ανάλυση του σπέρματος

Ολιγοζωοσπερμία	$< 15$ εκατ./ml
Ασθενοζωοσπερμία	$< 32\%$ κινητά σπερματοζωάρια (a+b)
Τερατοζωοσπερμία	$< 4\%$ φυσιολογικές μορφές
Αζωοσπερμία	Ανυπαρξία σπερματοζωαρίων στο σπερματικό πλάσμα
Ασπερμία	Απουσία σπερματικού πλάσματος

Πολλές φορές αυτές οι τρεις καταστάσεις συνυπάρχουν σε ένα δείγμα σπέρματος και αναφέρονται ως ολιγοασθενοτερατοζωοσπερμία. Συνήθως σπέρμα με ολιγοσπερμία συνοδεύεται και από ασθενή κινητικότητα. Σε ακραίες περιπτώσεις του συνδρόμου όπως για παράδειγμα σε αζωοσπερμία έχει βρεθεί αυξημένη επίπτωση απόφραξης της εκφορητικής οδού του σπέρματος και γενετικών ανωμαλίες.

### 1.3 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

Πολλές μελέτες καταδεικνύουν μία πτωτική τάση των διαφόρων παραμέτρων του σπέρματος σε παγκόσμιο επίπεδο (13). Το 61,1% φυσιολογικών ανδρών έχουν τουλάχιστον μια παράμετρο σπέρματος κάτω από τις τιμές αναφοράς που έχει ορίσει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (14). Αυτή η πιθανή εξασθένηση της ποιότητας του σπέρματος προκάλεσε το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών τα τελευταία χρόνια οι οποίοι εστιάστηκαν στους παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τα διάφορα χαρακτηριστικά του σπέρματος (13). Αναλογιζόμενοι ότι η ανθρώπινη αναπαραγωγή δεν αποτελεί μόνο μία βιολογική συμπεριφορά αλλά κοινωνική και ψυχολογική συμπεριφορά, πολλοί ερευνητές μελέτησαν την πιθανή συσχέτιση κοινωνικών, ψυχολογικών παραγόντων και του τρόπου ζωής με τις παραμέτρους του σπέρματος. Τα αποτελέσματα δεν είναι σαφή και ομοιογενή λόγω ίσως της πολυπλοκότητας που παρουσιάζουν οι παράγοντες αυτοί (15). Εκτός από γενετικούς παράγοντες, το περιβάλλον και ο τρόπος ζωής φαίνεται ότι επηρεάζουν την ποιότητα του σπέρματος, το οποίο προκύπτει και από το γεγονός ότι έχουν παρατηρηθεί μεγάλες γεωγραφικές διαφορές στα χαρακτηριστικά του σπέρματος (16).

#### ΗΛΙΚΙΑ

Η ηλικία έχει συσχετισθεί με ελάττωση του όγκου, της κινητικότητας και της φυσιολογικής μορφολογίας του σπέρματος (17). Το ερώτημα ωστόσο παραμένει ακόμα αναπάντητο λόγω έλλειψης επαρκών στοιχείων και της μεγάλης διακύμανσης που παρουσιάζουν τα σπερμοδιαγράμματα του ίδιου ατόμου κατά την διάρκεια του χρόνου (18).

Διάφοροι μηχανισμοί έχουν προταθεί για να εξηγήσουν την πιθανή συσχέτιση ηλικίας και ποιότητας σπέρματος. Για παράδειγμα η ελάττωση του σπερματικού όγκου μπορεί να οφείλεται σε ανεπάρκεια της σπερματοδόχου κύστης, καθώς το μεγαλύτερο μέρος του σπερματικού πλάσματος αποτελείται από εκκρίσεις αυτής (19). Επιπλέον μεταβολές στην λειτουργία του προστάτη και της επιδιδυμίδας με την πάροδο της ηλικίας (20) θα μπορούσαν να επηρεάσουν αρνητικά τον σπερματικό όγκο και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων (21). Στένωση και σκλήρυνση του αυλού των σπερματικών σωληναρίων, λιγότερα και υπολειτουργικά κύτταρα του Leydig, εκφυλισμός των γεννητικών κυττάρων που παρατηρούνται με την πρόοδο της ηλικίας θα μπορούσαν να συμβάλλουν στις μεταβολές της ποιότητας του σπέρματος (20). Γενικές και συστηματικές παθήσεις σε άνδρες μεγαλύτερης ηλικίας όπως σακχαρώδης διαβήτης, καρκίνος, υπερπλασία του προστάτη θα μπορούσαν επίσης να έχουν αρνητική επίδραση στην λειτουργία των όρχεων και κατ' επέκταση στην αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα (22). Ορμονικές μεταβολές σε άνδρες μεγαλύτερης ηλικίας έχουν παρατηρηθεί. Τα επίπεδα της ελεύθερης και της δεσμευμένης τεστοστερόνης μειώνονται κατά 50% από την ηλικία των 20 ετών μέχρι την ηλικία των 80 ετών (23).

Σε ανασκόπηση της βιβλιογραφίας το 2001 (21) η αύξηση της ηλικίας συνδέεται αρνητικά με τον σπερματικό όγκο, την κινητικότητα και την μορφολογία των σπερματοζωαρίων χωρίς όμως να υπάρχει κάποια συσχέτιση με την συγκέντρωση

του σπέρματος. Συγκεκριμένα μείωση του όγκου από 3%- 22%, της κινητικότητας από 3%- 37% και της φυσιολογικής μορφολογίας από 4%-18% είναι πιθανόν να παρατηρηθούν σε έναν άνδρα ηλικίας 50 ετών σε σχέση με έναν 30 ετών. Στο ίδιο αποτέλεσμα καταλήγει και μία πιο πρόσφατη μεταανάλυση (15) όπου η αυξανόμενη ηλικία συνδέεται αρνητικά με τον όγκο αλλά η συσχέτιση με την συγκέντρωση του σπέρματος παραμένει αβέβαια.

Ο Levitas et al, 2007 σε μια από τις πιο μεγάλες μελέτες που έγιναν ποτέ με 6022 δείγματα σπέρματος, ανέλυσε την επίδραση της ηλικίας στα χαρακτηριστικά του σπέρματος σε άνδρες από τον γενικό πληθυσμό με φυσιολογική συγκέντρωση σπέρματος μόνο. Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική έκπτωση της ποιότητας του σπέρματος με αύξηση της συγκέντρωσης αυτού η οποία είναι πιθανόν να συνδέεται και με μείωση του όγκου σε συνδυασμό με μεγάλης διάρκειας σεξουαλική αποχή. Οι καλύτερες παράμετροι του σπέρματος παρατηρήθηκαν στην ηλικία 30-35 ετών με στατιστικά σημαντική μείωση της ποιότητας του σπέρματος μετά την ηλικία των 55 ετών (24). Εποχιακές μεταβολές με καλύτερη συγκέντρωση ,κινητικότητα και μορφολογία έχουν αναφερθεί την διάρκεια του χειμώνα σε σχέση με το καλοκαίρι (25).

### ΚΑΠΝΙΣΜΑ

Παρά τις εκστρατείες κατά του καπνίσματος σε παγκόσμιο επίπεδο εκτιμάται ότι το 37% του ενήλικου πληθυσμού της Ευρώπης καπνίζει (26). Το κάπνισμα πιθανότατα συνδέεται με την ανδρική υπογονιμότητα και έχει αρνητική επίδραση στην πυκνότητα του σπέρματος, τον όγκο, την κινητικότητα και την μορφολογία (3). Ωστόσο τα δεδομένα σχετικά με την επίδραση του καπνίσματος στις διάφορες παραμέτρους του σπέρματος παραμένουν αντιφατικά, πολλές φορές λόγω του μικρού μέγεθους του δείγματος ή λόγω της επίδρασης και άλλων συγχυτικών παραγόντων (27).

Οι μηχανισμοί με τους οποίους το κάπνισμα επιδρά στην ποιότητα του σπέρματος δεν είναι πλήρως κατανοητοί ακόμη. Το γεγονός ότι η νικοτίνη και ο μεταβολίτης αυτής η κοτινίνη έχουν ανιχνευθεί στο σπερματικό πλάσμα καταδεικνύει ότι και άλλες επιβλαβείς ουσίες που εμπεριέχονται στον καπνό του τσιγάρου θα μπορούσαν να περάσουν τον φραγμό αίματος – όρχεων (28). Στο σπερματικό πλάσμα τα επίπεδα καδμίου και ελεύθερων ριζών οξυγόνου είναι σημαντικά αυξημένα σε συνδυασμό με ελαττωμένα επίπεδα αντιοξειδωτικών μορίων σε υπογόνιμους καπνιστές συγκρινόμενα με τα αντίστοιχα γόνιμων ανδρών και υπογόνιμων μη καπνιστών (29). Κατά αυτόν τον τρόπο θα μπορούσε το σπερματικό πλάσμα να θεωρηθεί ως ένα τοξικό περιβάλλον για τα σπερματοζώαρια. Επίσης σε καπνιστές έχουν βρεθεί ορμονικές μεταβολές μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται η ελάττωση της τεστοστερόνης και η αύξηση της οιστραδιόλης στο πλάσμα (30). Γενετικές αλλαγές έχουν επίσης ανευρεθεί στα σπερματοζώαρια των καπνιστών μιας και στον καπνό του τσιγάρου εμπεριέχονται περισσότερες από 30 γνωστές μεταλλαξιογόνες και καρκινογόνες χημικές ουσίες (31). Γενικά φαίνεται ότι η κατανάλωση καπνού αυξάνει το ποσοστό ανευλοειδιών σε ορισμένα χρωμοσώματα (1 και 13) (31,32). Η πρώτη επιδημιολογική μελέτη για την επίδραση της ενδομήτριας έκθεσης του άνδρα στις ουσίες του καπνού στις διάφορες παραμέτρους του σπέρματος δημοσιεύτηκε το

2007. Αυτή η μελέτη απέδειξε ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση καπνού από την μητέρα και τον ολικό αριθμό σπερματοζωαρίων στην μετέπειτα ενήλικη ζωή του άνδρα, χωρίς επίπτωση στην κινητικότητα και στην μορφολογία του σπέρματος (33).

Σε μία ανασκόπηση (30) 27 μελετών για την επίδραση του καπνίσματος στην ποιότητα του σπέρματος διαπιστώθηκε μείωση κατά 13% στην πυκνότητα του σπέρματος, κατά 10% στην κινητικότητα και κατά 3% στην φυσιολογική μορφολογία των σπερματοζωαρίων στους καπνιστές σε σύγκριση με τους μη καπνιστές. Ωστόσο στις περισσότερες μελέτες όπου βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ποιότητα του σπέρματος μελετήθηκαν άνδρες από τον γενικό πληθυσμό και όχι άνδρες υπογόνιμοι από κλινικές υπογονιμότητας και το μέγεθος του δείγματος ήταν αρκετά μικρό (26).

Μία ανασκόπηση από τον Marinelli et al, 2004 (34) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το κάπνισμα έχει περιορισμένη επίδραση στην ποιότητα του σπέρματος.

Δανοί ερευνητές πραγματοποίησαν την πιο μεγάλη μελέτη που έχει δημοσιευθεί ποτέ σχετικά με την επίδραση του καπνίσματος στην αναπαραγωγική λειτουργία του άνδρα περιλαμβάνοντας 2542 υγιείς άνδρες (35). Το συμπέρασμα ήταν ότι η συγκέντρωση του σπέρματος, ο όγκος και το ποσοστό των κινητών σπερματοζωαρίων μειώνεται στους καπνιστές.

Σε μια τελευταία μεταανάλυση το 2011 το συμπέρασμα που εξάχθηκε ήταν ότι το κάπνισμα έχει καταστροφικές συνέπειες για όλες τις παραμέτρους του σπέρματος (15).

Σε 18 μελέτες έχει επίσης διερευνηθεί το αν η σχέση καπνίσματος και ποιότητας σπέρματος είναι δόσοεξαρτώμενη. Σε όλες σχεδόν παρατηρήθηκε μία μείωση των παραμέτρων του σπέρματος η οποία ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντική (35).

Λαμβάνοντας υπόψη ότι το κάπνισμα αποτελεί μόνο μία παράμετρο ενός γενικότερου τρόπου ζωής είναι λογικό και άλλοι παράγοντες όπως η κατανάλωση αλκοόλ, το στρες, οι διατροφικές συνήθειες και η κατάχρηση φαρμάκων να ασκούν συνεργική ή και ανεξάρτητη επίδραση στην ποιότητα του σπέρματος. Παρότι λοιπόν η ποιότητα του σπέρματος δείχνει να είναι επηρεασμένη στους καπνιστές σε σύγκριση με τους μη καπνιστές, συνήθως παραμένει μέσα στα φυσιολογικά όρια (36). Στα άτομα όμως με παραμέτρους σπέρματος στα όρια του φυσιολογικού η διακοπή του καπνίσματος θα ήταν ωφέλιμη (30).

## ΑΛΚΟΟΛ

Η υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να είναι καταστροφική για την ποιότητα του σπέρματος, ωστόσο το αποτέλεσμα φαίνεται να είναι αναστρέψιμο. Η κατανάλωση αλκοόλ μπορεί να προκαλέσει στους άνδρες ατροφία των όρχεων, ελάττωση της λίμπιντο και σεξουαλική δυσλειτουργία (37,38). Το αλκοόλ φαίνεται ότι επηρεάζει τον άξονα υποθάλαμος – υπόφυση – όρχεις με 2 τρόπους : πρώτον εμποδίζοντας άμεσα την στεροειδογένεση στους όρχεις και δεύτερον αναστέλλοντας



την απελευθέρωση GnRH και LH από τον υποθάλαμο – υπόφυση αντίστοιχα (39). Στο ανθρώπινο σπέρμα η εθανόλη προκαλεί ελάττωση του ποσοστού των κινητών και μορφολογικά ομαλών σπερματοζωαρίων (38). Δεν έχει αποδειχθεί ακόμα καμία αιτιολογική συσχέτιση ανάμεσα σε μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ και σε σπέρμα κακής ποιότητας (40) και η επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ παραμένει ακόμα αβέβαιη (15). Μάλιστα σε μια ανασκόπηση (34) μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται να παίζει προστατευτικό ρόλο στην ποιότητα του σπέρματος ίσως λόγω κάποιων αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται σε ορισμένα αλκοολούχα ποτά. Έτσι για τους άνδρες επιτρέπεται η κατανάλωση 3 – 4 μονάδων αλκοόλ την ημέρα.

### ΚΑΦΕΙΝΗ

Η καφεΐνη βρίσκεται στο τσάι, στον καφέ, στα αναψυκτικά και στην σοκολάτα και η κατανάλωση της είναι ιδιαίτερα αυξημένη στον δυτικό κόσμο. Δεν βρέθηκε προς το παρόν κάποια συσχέτιση μεταξύ της καφεΐνης και των χαρακτηριστικών του σπέρματος (40,41,42). Ωστόσο η κατανάλωση καφέ μαζί με το κάπνισμα φαίνεται ότι ελαττώνουν την κινητικότητα του σπέρματος και αυξάνουν το ποσοστό των νεκρών σπερματοζωαρίων (43).

Σε μια πρόσφατη μεγάλη μελέτη που έγινε στην Δανία διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης καφεΐνης από την μητέρα και των παραμέτρων του σπέρματος λόγω της ενδομήτριας έκθεσης του αρσενικού εμβρύου στην καφεΐνη. Ωστόσο δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στην ποιότητα του σπέρματος που να συνδέεται με την κατανάλωση καφέ στην μετέπειτα ζωή παρά μόνο αύξηση των επιπέδων της τεστοστερόνης του πλάσματος (42). Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν και στην μεταανάλυση (15) όπου η επίδραση της κατανάλωσης καφέ στην ποιότητα του σπέρματος δεν είναι στατιστικά σημαντική.

### ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Τα τελευταία 50 χρόνια η λεγομένη δυτική διαίτα έχει αλλάξει δραματικά χαρακτηριζόμενη από υψηλότερη πρόσληψη θερμίδων, λιπαρά και σάκχαρα.(USDE 2003).

Σύμφωνα με μια τελευταία μεταανάλυση η δυτική διαίτα δεν σχετίζεται σημαντικά με την συγκέντρωση, την μορφολογία και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων αλλά η διατροφή που περιέχει φρούτα, λαχανικά, κοτόπουλο, ψάρι, δημητριακά συνδέεται με καλύτερη κινητικότητα (44).

Επιπλέον σε διάφορες πειραματικές μελέτες βρέθηκε ότι η πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών που περιέχονται στα φρούτα και στα λαχανικά βελτιώνουν την κινητικότητα του σπέρματος (45,46). Μια τελευταία ανασκόπηση 17 τυχαιοποιημένων μελετών καταλήγει στο ίδιο συμπέρασμα σχετικά με την κατανάλωση αντιοξειδωτικών ουσιών (47).

## ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

Η παχυσαρκία αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας σε παγκόσμιο επίπεδο που εξαπλώνεται με ταχύτατους ρυθμούς. Στις ΗΠΑ μόνο υπολογίζεται ότι το 62% των ενήλικων γυναικών και το 71% των ενήλικων ανδρών είναι είτε υπέρβαροι είτε παχύσαρκοι (BMI>25)(48).

Οι επιδράσεις της παχυσαρκίας στην αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα είναι λιγότερο εμφανείς και έχουν μελετηθεί πολύ λιγότερο σε σχέση με τις αντίστοιχες στην γυναίκα. Πολλές αναφορές έχουν γίνει κατά καιρούς που μελετούν την αλληλεπίδραση της παχυσαρκίας με τα χαρακτηριστικά του σπέρματος, το ορμονικό προφίλ, την σεξουαλική ικανότητα του άνδρα και την υπογονιμότητα.

Είναι γνωστό ότι οι υπέρβαροι άνδρες έχουν αυξημένο κίνδυνο για την εμφάνιση σεξουαλικής δυσλειτουργίας (49). Εκτός αυτού οι υπέρβαροι άνδρες παρουσιάζουν διαταραγμένο ορμονικό προφίλ με ελαττωμένη συνολική και ελεύθερη τεστοστερόνη και SHBG( sex-hormone binding globuline ) καθώς και αυξημένα οιστρογόνα (50). Η μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα στον λιπώδη ιστό φαίνεται ότι αυξάνει τα επίπεδα της λεπτίνης και καταστέλλει την λειτουργία της υπόφυσης διαταράσσοντας τον μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης αλληλορύθμισης (negative feedback) από τους όρχεις, οδηγώντας έτσι σε ελάττωση των γοναδοτροφινών και σε αλλαγές στην παραγωγή του σπέρματος (51,52). Πρόσφατα βρέθηκε ότι η παχυσαρκία συνδέεται με ελαττωμένα επίπεδα inhibin B, δείκτη της λειτουργίας των κυττάρων Sertoli και της διαδικασίας της σπερματογένεσης (53). Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός μέσω του οποίου ενδέχεται η παχυσαρκία να επιδρά στην παραγωγή του σπέρματος είναι η παρατεταμένη καθιστική ζωή η οποία συνδέεται με το αυξημένο σωματικό βάρος και φαίνεται ότι αυξάνει την τοπική θερμοκρασία στους όρχεις (54). Πιθανότατα όμως, μόνο οι ακραίες τιμές του βάρους να επηρεάζουν τις παραμέτρους του σπέρματος (55)

Σε μεταανάλυση σχετικά με την επίδραση του σωματικού βάρους στις παραμέτρους του σπέρματος οι 3 μεγαλύτερες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί καταλήγουν σε αντικρουόμενα αποτελέσματα (56).

Σε μία πρόσφατη μεγάλη μελέτη 1558 νέων ανδρών στην Δανία βρέθηκε στατιστικά σημαντική μείωση της πυκνότητας του σπέρματος και του ολικού αριθμού των σπερματοζωαρίων σε υπέρβαρους άνδρες σε σχέση με άνδρες φυσιολογικού βάρους. Στην ίδια μελέτη το ποσοστό της ολιγοζωοσπερμίας ήταν υψηλότερο μεταξύ των υπέρβαρων και παχύσαρκων ατόμων σε σύγκριση με τα άτομα φυσιολογικού βάρους (24,4% ως 27,1%) (53).

Πρόσφατα ωστόσο ανασκόπηση η οποία συμπεριέλαβε πληθυσμούς από πέντε διαφορετικές μελέτες κατέληξε στο ότι δεν υπάρχει καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του BMI και του σπέρματος (57). Τα ίδια αποτελέσματα είχε και ο Chavarro et al, 2010 (55) ο οποίος μελέτησε ένα μικρότερο πληθυσμό ατόμων αλλά σε υπογόνιμα ζευγάρια όπως και ο Duits et al, 2010(58).

## ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ

Κιρσοκήλη ονομάζεται η κιρσοειδής διεύρυνση των σπερματικών φλεβών. Εμφανίζεται σε ποσοστό περίπου 20% των ενήλικων ανδρών και εφήβων, σε ποσοστό 19% έως 41% των ανδρών με πρωτοπαθή υπογονιμότητα και σε ποσοστό 45% έως 81% των ανδρών με δευτεροπαθή υπογονιμότητα (59). Στο 75% -90% των περιπτώσεων εντοπίζεται αριστερά (8).

Η κατάταξη της κιρσοκήλης είναι χρήσιμη στην κλινική πράξη:

Υποκλινική: μη ψηλαφητή ή ορατή στην ανάπαυση ή κατά την δοκιμασία Valsalva παρά μόνο με ειδικές εξετάσεις (Doppler).

1<sup>ου</sup> βαθμού: ψηλαφητή μόνο με την δοκιμασία Valsalva.

2<sup>ου</sup> βαθμού: ψηλαφητή στην ανάπαυση αλλά όχι ορατή.

3<sup>ου</sup> βαθμού: ψηλαφητή και ορατή στην ανάπαυση.(8)

Διάφοροι μηχανισμοί μέσω των οποίων η κιρσοκήλη επηρεάζει την ανδρική υπογονιμότητα έχουν προταθεί κατά καιρούς. Για παράδειγμα η αύξηση της θερμοκρασίας στην περιοχή του οσχέου, η παλινδρόμηση μεταβολιτών από το ήπαρ και τα επινεφρίδια στις νεφρικές φλέβες, η υποξία και ελαττωμένη αιματική ροή αποτελούν πιθανούς μηχανισμούς (60).

Σε άτομα με μονόπλευρη και αμφοτερόπλευρη κιρσοκήλη δεν βρέθηκε κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στις παραμέτρους του σπέρματος (61). Ασθενείς με υπογονιμότητα και μονόπλευρη κιρσοκήλη παρουσίαζαν ιστολογικές αλλοιώσεις και στον ετερόπλευρο όρχι, ελαττωματική σπερματογένεση, εκφυλιστικές αλλοιώσεις στα κύτταρα Sertoli και ατροφία των κυττάρων του Leydig (61). Φαίνεται λοιπόν ότι ακόμα και σε περιπτώσεις μονόπλευρης κιρσοκήλης τοξικά προϊόντα μεταφέρονται μέσω της παράπλευρης φλεβικής κυκλοφορίας και επηρεάζουν και την λειτουργία του υγιούς όρχεως (61).

Σε μια αναδρομική μελέτη του 2011 (61) ασθενείς με κλινική κιρσοκήλη παρουσίαζαν σημαντικά ελαττωμένη κινητικότητα συγκρινόμενη με υγιείς εθελοντές χωρίς να επηρεάζεται η πυκνότητα του σπέρματος. Σύμφωνα (6) η κιρσοκήλη μπορεί να θεωρηθεί ως αίτιο της ανδρικής υπογονιμότητας μόνο σε περίπτωση που συνδέεται με μη φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα.

Παρότι παλαιότερα η αποκατάσταση της κιρσοκήλης χρησιμοποιούνταν ευρύτατα για την θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας, το θέμα βρίσκεται ακόμη υπό συζήτηση (62). Παραδοσιακά η αποκατάσταση της κιρσοκήλης γινόταν με υψηλή απολίνωση της έσω σπερματικής φλέβας, εναλλακτικό τρόπο θεραπείας αποτελεί και ο εμβολισμός της κιρσοκήλης.

Σε σχέση με την αποκατάσταση της κιρσοκήλης σε μια πρόσφατη μεταανάλυση (63) που συμπεριέλαβε άνδρες υπογόνιμους με παθολογικό σπερμοδιάγραμμα και κλινική κιρσοκήλη βρέθηκε ότι η συγκέντρωση και η κινητικότητα καθώς και η μορφολογία του σπέρματος βελτιώθηκαν σημαντικά καθώς επίσης και τα ποσοστά κύησης (64).

Σε μια τελευταία μεταανάλυση του 2011 από την European Association of Urology (65) η αποκατάσταση της κιρσοκήλης βελτιώνει τις παραμέτρους του σπέρματος, ελαττώνει το οξειδωτικό στρες του σπέρματος και τις βλάβες στο DNA του

σπέρματος χωρίς να έχει σαφές αποτέλεσμα για τα ποσοστά κύησης όπως προκύπτει από την ανάλυση τυχαιοποιημένων και προοπτικών μελετών σε υπογόνιμους άνδρες.

Σε μια συστηματική ανασκόπηση 7 τυχαιοποιημένων μελετών η αποκατάσταση της κισσοκήλης σε άνδρες με φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα, υποκλινική κισσοκήλη, κλινική κισσοκήλη και μη φυσιολογικό σπέρμα δεν είχε κανένα όφελος (66) για την θεραπεία της ανδρικής ή της ανεξήγητης υπογονιμότητας. (61 κύσεις σε 281 θεραπευμένα ζευγάρια vs 50 κύσεις σε 259 controls, RR 1.01, 95% CI 0.73 to 1.40 using a fixed effects model; RR 1.04, 95% CI 0.62 to 1.75). Τα αποτελέσματα ωστόσο αυτής της μεταανάλυσης δέχτηκαν κριτική γιατί οι μελέτες που συμπεριέλαβε είχαν μεγάλη ετερογένεια και συμμετείχαν και άνδρες με υποκλινική κισσοκήλη και φυσιολογικές παραμέτρους σπέρματος (67). Έτσι το συμπέρασμα είναι ότι απαιτούνται μεγαλύτερες και πιο σωστές τυχαιοποιημένες μελέτες σε άνδρες με κισσοκήλη και μη φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα από ζευγάρια με κατά τα άλλα ανεξήγητη υπογονιμότητα (68).

### ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΤΟΥ ΟΥΡΟΓΕΝΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Είναι γενικά αποδεκτό ότι συμπτωματικές και ασυμπτωματικές λοιμώξεις του ανδρικού ουρογεννητικού συστήματος αποτελούν ένα από τα δυνητικά θεραπεύσιμα αίτια της ανδρικής υπογονιμότητας (6). Από την άλλη πλευρά όμως δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι μια λοίμωξη επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος (69).

### ΨΥΧΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Το στρες στους άνδρες έχει συσχετισθεί με την ποιότητα του σπέρματος και την υπογονιμότητα του ζεύγους. Σοβαρή κατάθλιψη έχει συσχετισθεί με ελαττωμένα επίπεδα τεστοστερόνης και κατ'επέκταση με μειωμένη σπερματογένεση και συγκέντρωση σπέρματος (70). Ορισμένοι ερευνητές διαπίστωσαν επιδείνωση των παραμέτρων του σπέρματος ύστερα από κρίσεις άγχους (71). Ωστόσο σε μια τελευταία μεταανάλυση το στρες οδηγεί σε μείωση της πυκνότητας του σπέρματος και της κινητικότητας ταυτόχρονα με αύξηση των ανώμαλων μορφολογικά σπερματοζωαρίων (15).

### ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ

Περίπου 104.000 φυσικοί και χημικοί παράγοντες έχουν ανιχνευθεί στους χώρους εργασίας αλλά η επίδραση αυτών στην αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί ακόμα (72). Στοιχεία επαρκή για την αρνητική επίδραση των παραγόντων αυτών στο αναπαραγωγικό σύστημα του ανθρώπου υπάρχουν προς το παρόν για την ακτινοβολία, τα εντομοκτόνα, τα φυτοφάρμακα, την αυξημένη θερμοκρασία και τα μέταλλα. Η πιθανή αρνητική επίδραση των συνθηκών εργασίας

στην ποιότητα του σπέρματος για πρώτη φορά επισημάνθηκε το 1977. Τότε διαπιστώθηκε σοβαρή βλάβη στην σπερματογένεση από ένα συγκεκριμένο φυτοφάρμακο, το διβρωμοχλωροπροπάνιο (76). Γενικότερα οι κίνδυνοι στον επαγγελματικό χώρο μπορούν να διακριθούν σε φυσικούς (ζέστη και ακτινοβολία), χημικούς ( διαλύτες και φυτοφάρμακα) και ψυχολογικούς (άγχος)(73-79).

Επαγγελματικοί παράγοντες	Επαγγελματικές ομάδες	Επίδραση στην ανδρική γονιμότητα
<u>Φυσικοί</u>		
Πολύωρη εργασία	Εργάζομενοι με βάρδιες	Καμία συσχέτιση
Αυξημένη θερμοκρασία	Αρτοποιοί, οδηγοί, ηλεκτροσυγκολλητές	Παθολογικό σπερμοδιάγραμμα
Ακτινοβολία	Ακτινοθεραπευτές	Αζωοσπερμία, ασθενοζωοσπερμία πιθανώς αναστρέψιμη
Ηλεκτρομαγνητικά πεδία	Μεταλλεργάτες	Αμφισβητούμενη συσχέτιση
Δονήσεις	Χειριστές μηχανημάτων, εκσκαφείς	Ολιγοζωοσπερμία, ασθενοζωοσπερμία
<u>Χημικοί</u>		
Διβρωμοχλωροπροπάνιο (φυτοφάρμακα) Διβρωμίδιο του αιθυλενίου Πολυχλωριωμένα διφαινύλια Μόλυβδος, κάδμιο, μαγγάνιο	Αγρότες  Μεταλλεργάτες	Ολιγοζωοσπερμία, αζωοσπερμία (αναστρέψιμη συνήθως) Παθολογικό σπερμοδιάγραμμα Παθολογικό σπερμοδιάγραμμα  Μειωμένη γονιμότητα
Υδράργυρος Ακετόνη, διθειάνθρακας Γλυκολαιθέρες	Οδοντοτεχνίτες Χημικοί Ελαιοχρωματιστές	Καμία συσχέτιση Παθολογικό σπερμοδιάγραμμα Μειωμένη γονιμότητα, ολιγοσπερμία
Τολουόλιο, Στυρένιο	Βιομηχανία πλαστικών , τυπογραφεία	Καμία συσχέτιση
Αναισθητικά αέρια	Οδοντίατροι, ανασθησιολόγοι	Καμία συσχέτιση

### ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Η μακροχρόνια χρήση ορισμένων ορισμένων αντιβιοτικών, η σιμετιδίνη και η σουλφασαλαζίνη μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα του σπέρματος και να προκαλέσουν ολιγοζωοσπερμία (80-82). Συνήθως βέβαια το αποτέλεσμα είναι αναστρέψιμο μετά από 3 μήνες περίπου διακοπής του φαρμάκου. Η χρήση b-blockers και ψυχοτρόπων φαρμάκων μπορεί να οδηγήσει σε ανικανότητα (83). Η χημειοθεραπεία επίσης είναι υπεύθυνη για αζωοσπερμία που τις περισσότερες φορές είναι προσωρινή (84). Τέλος τα αναβολικά στεροειδή και η κοκαΐνη μπορούν να επηρεάσουν τα χαρακτηριστικά του σπέρματος (85,86,87).

### ΤΟΠΟΣ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ

Εκτιμήθηκαν δείγματα σπέρματος από 1082 γόνιμους άνδρες 4 ευρωπαϊκές πρωτεύουσες. Χαμηλότερη συγκέντρωση σπέρματος ανευρέθηκε στην Δανία, Γαλλία, Σκωτία. Την καλύτερη ποιότητα σπέρματος βρέθηκε ότι είχαν οι Φινλανδοί. Οι άνδρες από την Σκωτία είχαν το μεγαλύτερο ποσοστό κινητών σπερματοζωαρίων. Διαφορές στην μορφολογία των σπερματοζωαρίων δεν ανευρέθηκαν. Όλες αυτές οι διαφοροποιήσεις ίσως υποδεικνύουν διαφορετικό τρόπο ζωής ή ακόμα και διαφορετική περιβαλλοντική έκθεση σε άλλους παράγοντες μεταξύ των διαφόρων χωρών (88).

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ –ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Πλήθος μελετών καταδεικνύουν μια μείωση της ποιότητας του σπέρματος σε παγκόσμιο επίπεδο τα τελευταία 50 χρόνια, αποτελώντας ένα σημαντικό πρόβλημα υγείας (13). Ποσοστό 61,1% υγιών ανδρών παρουσιάζει τουλάχιστον μία παράμετρο σπέρματος κάτω από τα φυσιολογικά όρια που έχει θεσπίσει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (14). Αυτές οι παρατηρήσεις προκάλεσαν το ενδιαφέρον αρκετών ερευνητών οι οποίοι προσπάθησαν να αποδώσουν αυτή την διαφοροποίηση στην ποιότητα του σπέρματος σε παράγοντες όχι μόνο βιολογικούς αλλά και περιβαλλοντικούς. Ωστόσο τα αποτελέσματα αυτών των μελετών παραμένουν αντιφατικά λόγω ίσως της πολυπλοκότητας που παρουσιάζουν όλοι αυτοί οι παράγοντες, στα πλαίσια ενός γενικότερου τρόπου ζωής (15). Στόχος της μελέτης είναι να ερευνησουμε την επίδραση διαφόρων παραγόντων στην ποιότητα του σπέρματος σε άνδρες που προσέρχονται στην κλινική υπογονιμότητας του ΠΠΓΝΛ.

## 2.2 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πραγματοποιήσαμε μία αναδρομική μελέτη, ανατρέχοντας στους φακέλους των υπογόνιμων ζευγαριών που προσήλθαν στην Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής – Γυναικολογικής Κλινικής του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας τα τελευταία 3 χρόνια, από το 2010 έως και 05-2012 και προχώρησαν σε κάποια μέθοδο υποβοηθούμενης αναπαραγωγής IVF ή ICSI. Συμπεριλάβαμε στην μελέτη 280 άνδρες για τους οποίους διαθέταμε επαρκή στοιχεία από το ιστορικό και την ανάλυση σπέρματος.

Τα δεδομένα τα οποία αναζητήσαμε προκειμένου να προχωρήσουμε στην μελέτη ήταν τα εξής : ηλικία, βάρος, ύψος, κάπνισμα και αριθμός τσιγάρων/ημέρα, αλκοόλ και ποτήρια/ημέρα, ιστορικό κίρσοκλής και αποκατάσταση αυτής ή όχι, τόπος κατοικίας, επάγγελμα, λήψη φαρμάκων, τυχόν φλεγμονές του ουρογεννητικού συστήματος. Από την ανάλυση σπέρματος τα χαρακτηριστικά του σπέρματος τα οποία μελετήσαμε ήταν η συγκέντρωση, η κινητικότητα, ο όγκος και ο ολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων. Επειδή σχεδόν όλοι οι ασθενείς προέρχονται από την ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλίας δεν συμπεριλάβαμε στην μελέτη την επίδραση του τόπου κατοικίας στην ποιότητα του σπέρματος. Όσον αφορά προηγηθείσες φλεγμονές του ουρογεννητικού συστήματος μόνο 5 ασθενείς από το σύνολο ανέφεραν κάποια φλεγμονή. Το ποσοστό αυτό θεωρήθηκε αρκετά μικρό για να εξαχθεί κάποιο στατιστικό αποτέλεσμα και έτσι δεν συμπεριλήφθηκε αυτό το στοιχείο στα αποτελέσματα της μελέτης.

Η συλλογή του δείγματος σπέρματος έγινε σε ιδιωτικό χώρο στο τμήμα της Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής, δίπλα στο εργαστήριο ανάλυσης σπέρματος με αυνανισμό ύστερα από 2 έως και 7 ημέρες σεξουαλικής αποχής σε πλαστικό αποστειρωμένο κύπελλο. Η ώρα της εκσπερμάτισης, οι μέρες αποχής και το όνομα του ανδρός καταγράφονται πάνω στο αποστειρωμένο κύπελλο. Κατά την διάρκεια της επεξεργασίας του σπέρματος τα δείγματα προστατεύονται από τις ακραίες θερμοκρασίες  $<20^{\circ}\text{C}$  ή  $>40^{\circ}\text{C}$ . Μετά από 1 ώρα περίπου όπου παραμένει το δείγμα στους  $37^{\circ}\text{C}$  για να ρευστοποιηθεί γίνεται αξιολόγηση του χρώματος, του ιζώδους και του pH. Ο όγκος του δείγματος εκτιμάται αναρροφώντας σε μια πιπέτα. Η



συγκέντρωση του δείγματος αναφέρεται στον αριθμό των σπερματοζωαρίων ανά μονάδα όγκου σπέρματος. Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης με την πιπέτα παίρνουμε 10μl σπέρματος και το τοποθετούμε στο Makler sperm-count chamber όπου μετρούμε σε 10 τετραγωνάκια τον αριθμό των σπερματοζωαρίων και αυτό που βρίσκουμε αντιστοιχεί στον αριθμό των σπερματοζωαρίων  $10^6/ml$  σπέρματος. Η κινητικότητα του σπέρματος υπολογίζεται μετρώντας 100 σπερματοζωάρια 2 φορές. Αν υπάρχει διαφορά πάνω από 10% μεταξύ των δυο μετρήσεων τότε γίνεται και τρίτη μέτρηση και η κινητικότητα υπολογίζεται ως ο μέσος όρος των τριών μετρήσεων. Η κινητικότητα ορίζεται ως : προοδευτική κίνηση, μη προοδευτική κίνηση και ακινησία. Για κάθε δείγμα υπολογίζονται 200 σπερματοζωάρια χειροκίνητα από 2 διαφορετικούς βιολόγους με σκοπό να αποφευχθούν αποκλίσεις. Ο ολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων αναφέρεται στο σύνολο των σπερματοζωαρίων ανά εκσπερμάτιση και υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας την συγκέντρωση του δείγματος με τον όγκο. Οι παράμετροι του σπέρματος μελετήθηκαν σύμφωνα τα κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization, 2010) (1).

## 2.3 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η συσχέτιση μεταξύ συνεχών αριθμητικών μεταβλητών εξετάστηκε με τον συντελεστή συσχέτισης ( Pearson's colleration ). Η σύγκριση μεταξύ των μέσων τιμών διαφορετικών ομάδων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας είτε την ανάλυση μεταβλητότητας (one way analysis of variance ) με περαιτέρω ανάλυση (post hoc) Bonferroni, είτε το t – test για ανεξάρτητα δείγματα. Χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές μέθοδοι γιατί οι τιμές ακολουθούν την κανονική κατανομή. Η κανονικότητα των τιμών ελέγχθηκε με το Kolmogorov -Smirnov τεστ. Για να διερευνηθεί η επίδραση διαφόρων παραγόντων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος logistic regression. Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή  $\pm$  τυπικό σφάλμα ( mean  $\pm$  se ). Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε ως  $P < 0,05$ . Το στατιστικό πρόγραμμα το οποίο χρησιμοποιήθηκε είναι SPSS version 17.0.

## 2.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

280 άνδρες που προσήλθαν στην Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής στα πλαίσια της διαγνωσικής προσέγγισης της υπογονιμότητας του ζεύγους περιλαμβάνονται στην μελέτη. Οι μέσες τιμές των παραμέτρων του σπέρματος που μελετήσαμε στα πλαίσια του σπερμοδιαγράμματος και τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του πληθυσμού που προέκυψαν από την λήψη του ιστορικού φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 1).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΕΛΕΤΗΣ

Συνολικός αριθμός ανδρών	280
Πυκνότητα σπέρματος ( $10^6/ml$ ) Mean $\pm$ se Range N	43,54 $\pm$ 2,61 0 – 320 280
Κινητικότητα (PR %) Mean $\pm$ se Range N	48,44 $\pm$ 1,45 0 – 94 280
Όγκος σπέρματος (ml) Mean $\pm$ se Range N	3,04 $\pm$ 0,08 0,5 – 9,2 280
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση ( $10^6$ ) Mean $\pm$ se Range N	126,55 $\pm$ 8,64 0 – 1017,5 280
Ηλικία Mean $\pm$ se Range N	39,07 $\pm$ 0,31 28 – 59 280
BMI ( $kg/m^2$ ) Mean $\pm$ se Range N	27,44 $\pm$ 0,26 18 – 45 217
Κάπνισμα Ναι(%) Όχι(%) N	126(45%) 154(55%) 280
Αλκοόλ Ναι(%) Όχι(%) N	100(35,7%) 180(64,3%) 280
Κιρσοκήλη Ναι(%) Όχι(%) N	54(19,3%) 226(80,7%) 280

Από την στατιστική ανάλυση διαπιστώθηκε όπως ήταν αναμενόμενο θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του σπέρματος και της κινητικότητας ( $r=0,487$  και  $P<0,01$ ) και μεταξύ συγκέντρωσης και ολικού αριθμού σπερματοζωαρίων ( $r=0,814$  και  $P<0,01$ ). Μια αρνητική συσχέτιση συγκέντρωσης και όγκου σπέρματος διαπιστώθηκε όχι όμως στατιστικά σημαντική ( $P=0,09$ ). Ο ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων εκτός της συγκέντρωσης συσχετίζεται θετικά και με τον όγκο ( $r=0,3$  και  $P<0,01$ ) και με την κινητικότητα του σπέρματος ( $r=0,443$  και  $P<0,01$ ). Ο δείκτης μάζας σώματος των ανδρών που συμπεριλαμβάνονται στην μελέτη συσχετίζεται σημαντικά θετικά με την ηλικία ( $r=0,192$  και  $P<0,01$ ) και η ηλικία παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση και με τον αριθμό τσιγάρων/ημέρα ( $r=0,214$  και  $P=0,016$ ).

### ΗΛΙΚΙΑ

Η μέση ηλικία του δείγματος είναι 39,1 έτη. Από την ανάλυση των δεδομένων δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ ηλικίας και ποιότητας σπέρματος (πίνακας 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΗΛΙΚΙΑ	
	Συντελεστής συσχέτισης ( r )	P
<i>Πυκνότητα σπέρματος (<math>10^6/ml</math>)</i>	-0,021	NS
<i>Κινητικότητα (PR %)</i>	-0,099	NS
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	-0,092	NS
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (<math>10^6</math>)</i>	-0,071	NS

Προκειμένου να αναλύσουμε περαιτέρω τα δεδομένα χωρίσαμε τους άνδρες στις εξής ηλικιακές ομάδες :

- ✓  $\leq 30$  ετών ( n=10)
- ✓ 31 – 35 ετών ( n =66)
- ✓ 36 – 40 ετών ( n =111 )
- ✓ 41 – 45 ετών ( n =60 )
- ✓ >45 ετών ( n =33)

Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα χαρακτηριστικά του σπέρματος μεταξύ των ηλικιακών ομάδων. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 3.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΤΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΗΛΙΚΙΑΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΗΛΙΚΙΑ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (se)
<i>Πυκνότητα σπέρματος (10<sup>6</sup>/ml)</i>	≤30	31,9 (12,8)
	31-35	37,6 (4,34)
	36-40	50,6 (4,8)
	41-45	42,2 (5,4)
	>45	37,7 (6,3)
<i>Κινητικότητα (PR %)</i>	≤30	51,6 (7,32)
	31-35	48,1 (2,63)
	36-40	50 (2,4)
	41-45	48 (3,17)
	>45	44,1(4,7)
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	≤30	3,1 (0,32)
	31-35	3,2 (0,15)
	36-40	3,1(0,13)
	41-45	2,8 (0,19)
	>45	2,9 (0,25)
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (10<sup>6</sup>)</i>	≤30	81,63 (30,5)
	31-35	127 (19,6)
	36-40	144,7 (15)
	41-45	111,8 (16,4)
	>45	105 (17,2)

#### ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

Από τους 280 άνδρες υπήρχαν διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με το βάρος και το ύψος για τους 217 οι οποίοι και συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση σχετικά με την επίδραση του σωματικού βάρους στην ποιότητα του σπέρματος. Υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος με βάση τον τύπο BMI = βάρος σώματος (kg) / ύψος (m<sup>2</sup>). Η μέση τιμή του BMI στους 217 άνδρες είναι 27,44 kg/m<sup>2</sup>. Δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ του BMI και της ποιότητας του σπέρματος (πίνακας 4). Αυτό που βρέθηκε ήταν θετική συσχέτιση ανάμεσα στην ηλικία και στο BMI με στάθμη σημαντικότητας P<0,01.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ **BMI** ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

	<b>BMI</b>	
<b>ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ</b>	Συντελεστής συσχέτισης ( r )	P
<i>Πυκνότητα σπέρματος (10<sup>6</sup>/ml)</i>	-0,038	NS
<i>Κινητικότητα (PR%)</i>	-0,006	NS
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	0,011	NS
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (10<sup>6</sup>)</i>	0,021	NS

Στη συνέχεια προκειμένου να αναλύσουμε περαιτέρω τα δεδομένα διαίρεσαμε τους άνδρες της μελέτης σε 4 ομάδες ανάλογα με το BMI. Στην πρώτη ομάδα με BMI < 18,5 kg/m<sup>2</sup> ήταν μόνο ένα άτομο το οποίο και δεν συμπεριλάβαμε στην ανάλυση για την συσχέτιση σωματικού βάρους και σπέρματος.

- ✓ Φυσιολογικού σωματικού βάρους με BMI 18,5 -25 kg/m<sup>2</sup> ήταν 60 άτομα δηλαδή το 27,6%
- ✓ υπέρβαρα ήταν 105 (48,4%) με BMI 25-30 kg/m<sup>2</sup> και
- ✓ παχύσαρκα με BMI >30 kg/m<sup>2</sup> ήταν 51 άτομα(23,5%).

Ακόμα και αφού χωρίσαμε το δείγμα σε κατηγορίες δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ του BMI και των παραμέτρων του σπέρματος και καμία διαφορά σημαντική ανάμεσα στις τρεις κατηγορίες των ατόμων (πίνακας 5).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΤΙΣ 3 ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ BMI

<b>ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ</b>	<b>BMI</b>	<b>ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ (se)</b>
<i>Πυκνότητα σπέρματος (10<sup>6</sup>/ml)</i>	18,5 -25	35,6 (4,29)
	25-30	47,4 (5)
	>30	36,7 (5,5)
<i>Κινητικότητα (PR%)</i>	18,5-25	47,9 (3)
	25-30	50,2 (2,4)
	>30	50,4 (3,6)
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	18,5-25	3,2 (0,18)
	25-30	3,1 (0,12)
	>30	3,2 (0,22)
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (10<sup>6</sup>)</i>	18,5-25	108,6 (16,5)
	25-30	134,3 (15,1)
	>30	120,5 (22,4)

## ΚΑΠΝΙΣΜΑ

Από τους 180 άνδρες του δείγματος οι 126 (45%) ήταν καπνιστές και οι υπόλοιποι 154 (55%) ανέφεραν ότι δεν καπνίζουν. Στο δείγμα μας δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση της κατανάλωσης καπνού με την πυκνότητα και την κινητικότητα του σπέρματος. Η μόνη παράμετρος η οποία φαίνεται να επηρεάζεται από το κάπνισμα στο δείγμα μας είναι ο όγκος του σπέρματος με μέση τιμή 2,8 ml στους καπνιστές σε σύγκριση με 3,2 ml στους μη καπνιστές με στατιστική σημαντικότητα  $P < 0,05$  (πίνακας 6).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΕ ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ ΚΑΙ ΜΗ ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ

ΚΑΠΝΙΣΜΑ			
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΝΑΙ(126)	ΟΧΙ(154)	P
Πυκνότητα σπέρματος( $10^6/ml$ )	44,07±3,8	43,1±3,6	>0,05
Κινητικότητα (PR %)	48,5±2,1	48,4±2	>0,05
Όγκος σπέρματος (ml)	2,8±0,11	3,2±0,12	<0,05
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση ( $10^6$ )	125±14,1	128±10,6	>0,05

Στη συνέχεια στην ομάδα των καπνιστών ερευνήθηκε κατά πόσο ο βαθμός έκθεσης στον καπνό επηρεάζει τις παραμέτρους του σπέρματος. Καθώς δεν υπήρχαν στοιχεία για την διάρκεια σε έτη κατανάλωσης καπνού, χωρίσαμε τους άνδρες του δείγματος σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τον αριθμό των τσιγάρων ανά ημέρα που κάπνιζαν. Οι άνδρες του δείγματος κάπνιζαν κατά μέσο όρο 22, 25 τσιγάρα με τυπική απόκλιση ( $sd=12$ ). Έτσι

- ✓ Η πρώτη κατηγορία των καπνιστών περιλαμβάνει όσους καπνίζουν <10 τσιγάρα/ημέρα (λίγο)
- ✓ Η δεύτερη κατηγορία αυτούς που καπνίζουν 10 – 20 τσιγάρα/ημέρα (μέτριο)
- ✓ Και η τελευταία κατηγορία όσους καπνίζουν >20 τσιγάρα/ημέρα (πολύ)

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης δείχνουν ότι ο αριθμός των τσιγάρων ανά ημέρα δεν συσχετίζεται με καμία παράμετρο του σπέρματος (πίνακας 7). Επίσης βλέπουμε και τις μέσες τιμές των χαρακτηριστικών του σπέρματος στις διάφορες κατηγορίες καπνιστών (πίνακας 8).

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΑΡΙΘΜΟΥ ΤΣΙΓΑΡΩΝ/ΗΜΕΡΑ ΜΕ ΤΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΥΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΣΙΓΑΡΩΝ/ΗΜΕΡΑ	
	Συντελεστής συσχέτισης ( r )	P
<i>Πυκνότητα σπέρματος (10<sup>6</sup>/ml)</i>	-0,138	NS
<i>Κινητικότητα (PR%)</i>	-0,009	NS
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	0,033	NS
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (10<sup>6</sup>)</i>	-0,054	NS

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΤΙΣ ΟΜΑΔΕΣ ΚΑΠΝΙΣΤΩΝ

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΚΑΠΝΙΣΜΑ (N=126)		
	<i>&lt;10 τσιγάρα/ημερα</i>	<i>10-20τσιγάρα/ημερα</i>	<i>&gt;20τσιγάρα/ημερα</i>
<i>N(%)</i>	19(15,1%)	69(54,8%)	38(30,2%)
<i>Πυκνότητα σπέρματος (10<sup>6</sup>/ml)</i>	59,92±11,22	45,2±5,27	34,09±5,56
<i>Κινητικότητα (PR %)</i>	49,42±5,18	49,55±2,73	46,1±4,24
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	2,58±0,22	2,87±0,15	2,93±0,22
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (10<sup>6</sup>)</i>	138,8±32,02	133,1±21,36	103,5±21,2

### ΑΛΚΟΟΛ

Οι άνδρες ρωτήθηκαν σχετικά με την κατανάλωση αλκοόλ και 100 από τους 280 (35,7%) απάντησαν ότι καταναλώνουν αλκοόλ ενώ οι υπόλοιποι 180 (64,3%) πως δεν καταναλώνουν. Από τους άνδρες που καταναλώναν αλκοόλ οι 58 (58%) ανέφεραν μία μικρή κατανάλωση αλκοόλ, οι 29 (29%) μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ και οι υπόλοιποι 13 (13%) μεγάλη κατανάλωση. Στα αποτελέσματα του δείγματος φαίνεται ότι η κατανάλωση αλκοόλ δεν επιδρά στην ποιότητα του σπέρματος(πίνακας 9).

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΕ ΟΣΟΥΣ ΚΑΤΑΝΑΛΩΝΟΥΝ ΑΛΚΟΟΛ ΚΑΙ ΣΕ ΟΣΟΥΣ ΔΕΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΝΟΥΝ

ΑΛΚΟΟΛ			
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΝΑΙ	ΟΧΙ	P
N(%)	100(35,7%)	180(64,3%)	NS
Πυκνότητα σπέρματος ( $10^6/ml$ )	41,8±4,6	44,5±3,16	NS
Κινητικότητα (PR %)	49,54±2,5	47,8±1,8	NS
Όγκος σπέρματος (ml)	3,02±0,14	3,06±0,1	NS
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση ( $10^6$ )	119,2±14,53	130,6±10,8	NS

#### ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ

Κατά την λήψη του ιστορικού σημαντικό στοιχείο για την διερεύνηση της ανδρικής υπογονιμότητας αποτελεί και η εμφάνιση κισσοκήλης ή όχι. Έτσι οι άνδρες ανέφεραν από το ιστορικό τους την ύπαρξη ή όχι κισσοκήλης και όσοι είχαν κισσοκήλη αν υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση με σκοπό την αποκατάσταση αυτής. Από το σύνολο των ανδρών μόνο 54 (19,3%) ανέφεραν ότι είχαν κισσοκήλη και από αυτούς 34 (63%) υποβλήθηκαν σε επέμβαση με το υπόλοιπο 37% να μην προχωρήσει σε αποκατάσταση αυτής. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 10) με τις μέσες τιμές των παραμέτρων του σπέρματος αντίστοιχα στις δυο ομάδες των ανδρών. Όπως φαίνεται η συγκέντρωση του σπέρματος, ο ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων και η κινητικότητα του σπέρματος είναι σημαντικά μειωμένες στους άνδρες με κισσοκήλη σε σχέση με τους φυσιολογικούς. Έτσι παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση του σπέρματος στους άνδρες με κισσοκήλη εμφανίζει μείωση κατά 64% σε σχέση με τους υπόλοιπους, η κινητικότητα μειώνεται κατά 40% και ο ολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων κατά 57%. Όσον αφορά στην αποκατάσταση της κισσοκήλης δεν βρέθηκε να βελτιώνει τις παραμέτρους του σπέρματος σημαντικά (πίνακας 11).



ΠΙΝΑΚΑΣ 10. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΣΕ ΑΝΤΡΕΣ ΜΕ ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ ΚΑΙ ΣΕ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ

<b>ΚΙΡΣΟΚΗΛΗ</b>			
<b>ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ</b>	<b>ΝΑΙ(54)</b>	<b>ΟΧΙ(226)</b>	<b>P</b>
<i>Πυκνότητα σπέρματος (<math>10^6/ml</math>)</i>	17,86±3,66	49,67±2,97	<b>&lt;0,01</b>
<i>Κινητικότητα (PR %)</i>	35,55±3,5	51,52±1,52	<b>&lt;0,01</b>
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	3,36±0,21	2,97±0,09	0,08
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (<math>10^6</math>)</i>	61,33±14,7	142,1±9,84	<b>&lt;0,01</b>

ΠΙΝΑΚΑΣ 11. ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΙΡΣΟΚΗΛΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ

<b>ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ</b>	<b>ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΚΙΡΣΟΚΗΛΗΣ</b>		
	<b>ΝΑΙ</b>	<b>ΟΧΙ</b>	<b>P</b>
<i>N(%)</i>	34(63%)	20(37%)	NS
<i>Πυκνότητα σπέρματος <math>10^6/ml</math></i>	20,14 ± 5,03	14 ± 5	NS
<i>Κινητικότητα (%)</i>	35,5 ± 4,35	35,6 ± 6	NS
<i>Όγκος σπέρματος (ml)</i>	3,5 ± 0,26	3,05 ± 0,36	NS
<i>Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων/εκσπερμάτιση (<math>10^6</math>)</i>	70,37 ± 20,7	46 ± 18,6	NS

## 2.5 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήσαμε διερευνήσαμε κατά πόσο η ηλικία, το σωματικό βάρος, το κάπνισμα, η κατανάλωση αλκοόλ και η παρουσία κίρσοκίλης επιδρούν στην ποιότητα του σπέρματος. Το υλικό μας αποτέλεσαν άνδρες που προσήλθαν στην Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής του ΠΠΓΝΛ στα πλαίσια της διαγνωστικής προσέγγισης της υπογονιμότητας του ζεύγους.

Η επίδραση της ηλικίας του ανδρός στην ποιότητα του σπέρματος παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για 2 βασικούς λόγους: πρώτον γιατί υπάρχει η τάση στις ανεπτυγμένες χώρες για τεκνοποίηση σε ολοένα και μεγαλύτερη ηλικία και δεύτερον γιατί η βελτίωση των μεθόδων υποβοηθούμενης αναπαραγωγής επιτρέπει σήμερα σε άνδρες που παλαιότερα θεωρούνταν υπογόνιμοι να αποκτήσουν παιδιά (18). Από την ανάλυση του δείγματος δεν προκύπτει καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση ηλικίας και χαρακτηριστικών του σπέρματος παρότι επισημάνθηκε μία βαθμιαία πτώση των παραμέτρων του σπέρματος εκτός του όγκου μετά την ηλικία των 40 ετών. Σε μία πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας (21) η ηλικία συνδέεται αρνητικά με τον σπερματικό όγκο, την κινητικότητα και την μορφολογία των σπερματοζωαρίων χωρίς σαφές συμπέρασμα για την συγκέντρωση του σπέρματος. Στην μελέτη μας αυτό που πρέπει να λάβουμε υπόψη για την κατανόηση των αποτελεσμάτων είναι η προέλευση του δείγματος. Πρόκειται για δείγμα από υπογόνιμα ζευγάρια που το μεγαλύτερο ποσοστό των ανδρών βρίσκεται σε ηλικία 30-40 ετών. Ωστόσο, εφόσον δεν αποτέλεσε αντικείμενο της μελέτης μας, δεν μπορεί να αποκλειστεί η σημαντική μεταβολή στην ποιότητα του σπέρματος στο γενικό πληθυσμό ανδρών ηλικίας άνω των 50 ετών. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με την μελέτη του Winkle et al, 2009 (89) σε άνδρες που απευθύνθηκαν σε κλινική υπογονιμότητας όπου καμία συσχέτιση με την ηλικία δεν ανευρέθηκε.

Μελετήσαμε την επίπτωση του σωματικού βάρους στα χαρακτηριστικά του σπέρματος αφού χωρίσαμε τους άνδρες του δείγματος σε 4 κατηγορίες ανάλογα με το BMI. Δεν βρήκαμε καμία σημαντική διαφορά στην ποιότητα του σπέρματος μεταξύ των ατόμων φυσιολογικού σωματικού βάρους, υπέρβαρων και παχύσαρκων. Μόνο σε παχύσαρκους άνδρες βρέθηκε μία μείωση της συγκέντρωσης και του ολικού αριθμού σπερματοζωαρίων σε σύγκριση με τους υπέρβαρους, οι οποίες ωστόσο δεν ήταν στατιστικά σημαντικές. Αν το δείγμα της μελέτης μας ήταν μεγαλύτερο, πιθανόν τότε οι ακραίες τιμές του BMI να είχαν αρνητική επίδραση στην αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης είναι σύμφωνα και με άλλες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε άνδρες που επισκέφθηκαν Μονάδες Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής στα πλαίσια του υπογόνιμου ζεύγους (55,58) όπως και με μια τελευταία μετα-ανάλυση που συμπεριέλαβε τα αποτελέσματα 5 διαφορετικών υποπληθυσμών (57). Ένας πιθανός περιορισμός στα συμπεράσματα της μελέτης θα μπορούσε να θεωρηθεί το μικρό ποσοστό των παχύσαρκων ατόμων και το γεγονός ότι σχεδόν οι μισοί άνδρες του δείγματος συγκαταλέγονται στην κατηγορία των υπέρβαρων ατόμων. Ωστόσο δεν φαίνεται να συμφωνούν τα αποτελέσματά μας με τον Jensen et al, 2004 (53) που όμως μελέτησε μόνο νέους υγιείς άνδρες από τον γενικό πληθυσμό.

Η πραγματική επίπτωση του καπνίσματος στην αναπαραγωγική ικανότητα του άνδρα παραμένει ακόμα αντικείμενο συζήτησης και αναφέρονται πολλοί υποθετικοί μηχανισμοί όπως βλάβη στην διαδικασία της σπερματογένεσης (90), επαγωγή της

απόπτωσης (91) και δομικών ανωμαλιών των σπερματοζωαρίων (92). Στη μελέτη που πραγματοποιήσαμε η συγκέντρωση, η κινητικότητα και ο ολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων φαίνεται ότι δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών. Η μόνη παράμετρος του σπέρματος η οποία έχει μειωθεί στατιστικά σημαντικά στους καπνιστές του δείγματος είναι ο όγκος. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες (26) σε 1104 υπογόνιμους άνδρες όπου δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ καπνού και ποιότητας σπέρματος. Στην ανάλυση των αποτελεσμάτων σημαντικό είναι να λάβουμε υπόψη την προέλευση του πληθυσμού της μελέτης (υπογόνιμα ζευγάρια) καθώς και το μέγεθος του δείγματος. Αρκετοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η επίδραση του καπνίσματος στην ποιότητα του σπέρματος είναι πιο έκδηλη στον γενικό πληθυσμό και όχι σε υπογόνιμους ασθενείς (30). Οι αντικρουόμενες απόψεις μεταξύ των ερευνητών στην επίπτωση του καπνίσματος ίσως αντικατοπτρίζουν το μικρό μέγεθος των δειγμάτων στις περισσότερες μελέτες, την διαφορετική προέλευση του δείγματος (υγιείς εθελοντές ή ασθενείς υπογόνιμοι) ή και την αλληλοεπικαλυπτόμενη δράση καπνίσματος και αλκοόλ που συνήθως συνυπάρχουν. Υποθέτουμε λοιπόν πως πιθανόν ο όγκος του σπέρματος είναι η πρώτη παράμετρος που επηρεάζεται από την κατανάλωση καπνού πολύ πριν επηρεαστεί η συγκέντρωση και η κινητικότητα. Επιπλέον ο Jensen et al, 2004 (93) προτείνει ότι η προγεννητική έκθεση στον καπνό του τσιγάρου αποτελεί ισχυρότερο προγνωστικό παράγοντα για την ποιότητα του σπέρματος σε σχέση με το κάπνισμα στην μετέπειτα ενήλικη ζωή και ίσως η συσχέτιση μεταξύ καπνίσματος και κακής ποιότητας σπέρματος να αντικατοπτρίζει ουσιαστικά την έκθεση του ατόμου κατά την ενδομήτρια ζωή του. Όταν συγκρίναμε τις διάφορες ομάδες καπνιστών μεταξύ τους τότε παρατηρήσαμε μία τάση για μείωση της πυκνότητας και του ολικού αριθμού σπερματοζωαρίων ανάλογα με τον αριθμό των τσιγάρων ανά ημέρα συμφωνώντας και με τα αποτελέσματα του Pasqualotto et al, 2006 (94).

Οι επιδράσεις του αλκοόλ στην ποιότητα του σπέρματος είναι ακόμα υπό συζήτηση. Σε χρόνιους αλκοολικούς παρατηρήθηκε ελάττωση της συγκέντρωσης του σπέρματος καθώς και του ποσοστού των φυσιολογικών μορφολογικά σπερματοζωαρίων (95). Όμως αυτές οι παρατηρήσεις έγιναν σε μικρό πληθυσμό ατόμων. Τα αποτελέσματα της μελέτης σχετικά με την επίδραση του αλκοόλ αποκαλύπτουν μια μείωση της συγκέντρωσης και του ολικού αριθμού των σπερματοζωαρίων όχι στατιστικά σημαντική. Πιθανότατα αυτό να οφείλεται στην συνεργική δράση αλκοόλ και καπνού ώστε να μην μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά και μόνο στο αλκοόλ οποιαδήποτε μεταβολή στην ποιότητα του σπέρματος. Οι περισσότεροι άνδρες του δείγματος είναι κοινωνικές πότες και ανέφεραν μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, η οποία δεν φαίνεται και από την βιβλιογραφία να σχετίζεται με παθολογικό σπέρμα (40).

Η κισσοκήλη αποτελεί το πιο συχνό παθολογικό εύρημα που ανευρίσκεται κατά την κλινική εξέταση σε άνδρες υπογόνιμους και θεωρείται το πιο κοινό θεραπεύσιμο αίτιο ανδρικής υπογονιμότητας (96, 97). Παρότι η αποκατάσταση της κισσοκήλης χρησιμοποιείται ευρέως για την θεραπεία της ανδρικής υπογονιμότητας, σήμερα η αποτελεσματικότητά της είναι αμφισβητήσιμη (62). Στην αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήσαμε, οι άνδρες που ανέφεραν στο ιστορικό τους κισσοκήλη εμφάνιζαν σημαντικά ελαττωμένη συγκέντρωση και κινητικότητα σπέρματος σε σύγκριση με τους υπόλοιπους. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν εν μέρει με τα αποτελέσματα του Xue et al, 2011(61) όπου οι ασθενείς με κισσοκήλη είχαν σημαντικά ελαττωμένη κινητικότητα χωρίς επίπτωση στην συγκέντρωση του σπέρματος συγκρινόμενη με

υγιείς εθελοντές. Ωστόσο ακόμα και στους άνδρες με κισσοκήλη η μέση τιμή συγκέντρωσης και κινητικότητας παρέμεινε μέσα στα φυσιολογικά όρια κατά WHO 2010. Αυτό ίσως εξηγεί και το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά σε αυτές τις παραμέτρους του σπέρματος σε όσους υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση και σε όσους όχι. Σε σχέση με την αποκατάσταση της κισσοκήλης σε μια πρόσφατη μεταανάλυση (63) που συμπεριέλαβε άνδρες υπογόνιμους με παθολογικό σπερμοδιάγραμμα και κλινική κισσοκήλη βρέθηκε ότι η συγκέντρωση και η κινητικότητα καθώς και η μορφολογία του σπέρματος βελτιώθηκαν σημαντικά καθώς επίσης και τα ποσοστά κύησης (64). Στην μελέτη που πραγματοποιήσαμε ήταν δύσκολο να γνωρίζουμε τον βαθμό της κισσοκήλης και στηριχτήκαμε μόνο στις απαντήσεις του υπογόνιμου ζεύγους κατά την λήψη του ιστορικού. Βέβαια τα αποτελέσματα μας σε αυτό το σημείο θα μπορούσαν να δεχτούν κριτική καθώς πιο ορθή προσέγγιση θα ήταν να εκτιμήσουμε τα άτομα με κισσοκήλη πριν και μετά την χειρουργική επέμβαση, όμως αυτά τα στοιχεία δεν ήταν διαθέσιμα και απλά μελετήσαμε το αν διέφεραν στατιστικά σημαντικά οι παράμετροι του σπέρματος μεταξύ των δυο ομάδων. Σύμφωνα με την American urological association και την American society for reproductive medicine (98) η χειρουργική αποκατάσταση της κισσοκήλης δεν ενδείκνυται σε άνδρες με φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα και υποκλινική κισσοκήλη. Σε αντίθεση η National Collaborating Centre for Women's and Children's Health, 2005 (9) τονίζει ότι οι άνδρες δεν θα πρέπει να υποβάλλονται σε αποκατάσταση της κισσοκήλης διότι δεν φαίνεται να βελτιώνει τα ποσοστά κύησης. Η European Urological Association Guidelines on Male Infertility, 2010 (8) απλά καταλήγει στο ότι το ζήτημα της αποκατάστασης της κισσοκήλης ακόμα παραμένει υπό αμφισβήτηση.

Έτσι λοιπόν συμπεραίνουμε το κάπνισμα μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος. Η ηλικία δεν φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα του σπέρματος στο δείγμα μας. Η συσχέτιση του σωματικού βάρους με το σπέρμα παραμένει αμφισβητήσιμη και ίσως μόνο οι ακραίες τιμές του δείκτη μάζας σώματος θα μπορούσαν να είναι καθοριστικές για την ποιότητα του σπέρματος. Μια μέτρια κατανάλωση αλκοόλ δεν επηρεάζει τις παραμέτρους του σπέρματος. Η κισσοκήλη αποτελεί παράγοντα που συνδέεται με την ανδρική υπογονιμότητα επηρεάζοντας και την συγκέντρωση του σπέρματος και την κινητικότητά του. Ωστόσο η χειρουργική αποκατάσταση της δεν φαίνεται να βελτιώνει σημαντικά, ούτε την ποιότητα του σπέρματος, ούτε τα ποσοστά κύησης. Ωστόσο, θα πρέπει να μην γενικεύσουμε τα συμπεράσματά μας καθώς το δείγμα της μελέτης μας δεν προέρχεται από το γενικό πληθυσμό αλλά αντιθέτως αφορά σε υπογόνιμα ζευγάρια.

## 2.6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 5th edn. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.
2. Weiske WH et al. (2000). Clinical findings in congenital absence of the vasa deferentia. *Andrologia*, 32:13-18.
3. Zinaman MJ, Brown CC, Selevan SG, Clegg ED. Semen quality and human fertility: a prospective study with healthy couples. *J Androl.* 2000;21(1):145- 53.
4. Larsen L et al. (2000). Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Human Reproduction*, 15:1562-1567
5. Behre HM et al. (2000). Diagnosis of male infertility and hypogonadism. In: Nieschlag E, Behre HM, eds. *Andrology, male reproductive health and dysfunction*. Berlin, Springer: 92.
6. World Health Organization. WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
7. Nieschlag E, Behre HM. *Andrology (Eds), Male reproductive health and dysfunction*, 2nd Ed. Springer Verlag, Berlin, Chapter 5, pp.83-87.
8. European Association of Urology. Guidelines on Male Infertility; 2010.
9. Clinical guidelines: Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health 2004;54-5.
10. Cooper TG et al. (2010). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human Reproduction Update*, 16:231-245.
11. Menkveld R, Wong WY, Lombard CJ, et al. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in vivo thresholds. *Hum Reprod.* 2001;16(6):1165-71.
12. Opsahl MS, Dixon NG, Robins ER, Cunningham DS. Single vs. multiple semen specimens in screening for male infertility factor A comparison. *J Reprod Med* 1996;41:313-5.
13. Carlsen E, Aleksander G, Niels K, Niels E, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 1992;305: 609-13
14. Li YF, Lin H, Ma MF, Li B, Cai M, Zhou NY, et al. Semen quality of 1346 healthy men, results from the Chongqing area of southwest China. *Hum Reprod* 2009;24:459-69
15. Ying Li, Ph.D., Hui Lin, Ph.D., Yafei Li, Ph.D., Jia Cao, Ph.D. Association between socio-psycho-behavioral factors and male semen quality: systematic review and meta-analyses. *Fertility and Sterility*, Volume 95, Issue 1, January 2011, Pages 116-123
16. Fisch H, Ikeguchi EF, Goluboff ET. Worldwide variations in sperm counts. *Urology* 1996;48:909-11

17. Lemcke B, Behre HM, Nieschlag E. Frequently subnormal semen profiles of normal volunteers recruited over 17 years. *Int J Androl.* 1997;20(3):144-52
18. Plas E, Berger P, Hermann M, Pfluger H. Effects of aging on male fertility? *Exp Gerontol.* 2000;35:543–551.
19. Hamilton D, Naftolin F. *Basic reproductive medicine.* Cambridge, Mass: MIT Press, 1981
20. Schneider EL. *The aging reproductive system.* New York: Raven Press, 1978.
21. Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil Steril*2001;75:237–248.
22. Schwartz D, Mayaux MJ, Spira A, Moscato ML, Jouannet P, Czyglik F, David G. Semen characteristics as a function of age in 833 fertile men. *Fertil Steril.* 1983;39:530–535
23. Herman M, Berger P (1999) Ageing of male endocrine system. *Rev Physiol Biochem Pharm* 139:90–122.
24. Levitas E, Lunenfeld E, Weisz N, Friger M, Potashnik G. Relationship between age and semen parameters in men with normal sperm concentration: analysis of 6022 semen samples. *Andrologia* 2007;39: 45–50.
25. Andolz P, Bielsa MA, Andolz A. Circannual variation in human semen parameters. *Int J Androl.* 2001;24(5):266-71.
26. Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K. The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Hum Reprod.* 2002;17(6):1554-9
27. Soares SR, Melo MA. Cigarette smoking and reproductive function. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008;20:281–291
28. Vine MF, Hulka BS , Margolin BH, Truong YK, Hu PH, Schramm MM et al. Cotinine concentrations in semen , urine, and blood of smokers and non smokers. *Am J Public Health* 1993;83:1335-8
29. Kiziler AR, Aydemir B, Onaran I, et al. High levels of cadmium and lead in seminal fluid and blood of smoking men are associated with high oxidative stress and damage in infertile subjects. *Biol Trace Elem Res* Winter 2007; 120:82–91.
30. Vine MF. Smoking and male reproduction: a review. *Int J Androl.* 1996;19(6):323-37
31. Rubes J, Lowe X, Moore D 2nd, Perreault S, et al. Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men. *Fertil Steril.* 1998;70(4):715
32. Shi Q, Ko E, Barclay L, et al. Cigarette smoking and aneuploidy in human sperm. *Mol Reprod Dev* 2001; 59:417–421
33. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Storgaard L, et al. Is prenatal exposure to tobacco smoking a cause of poor semen quality? A follow-up study. *Am J Epidemiol* 2007; 165:1372-1379.
34. Marinelli D, Gaspari L, Pedotti P, Taioli E. Minireview of studies on the effect of smoking and drinking habits on sperm parameters. *Int J Hyg Environ Health* 2004;207:185–92

35. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, et al. Is smoking a risk factor for decreased sperm quality? A cross-sectional analysis. *Hum Reprod* 2007; 22:188-196.
36. The Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Smoking and infertility. *Fertil Steril*. 2008;90:S254–9
37. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. *Fertil Steril* 2005; 84: 919–924.
38. Donnelly GP, McClure N, Kennedy MS, Lewis SE. Direct effect of alcohol on the motility and morphology of human spermatozoa. *Andrologia* 1999; 31: 43–47
39. Little PJ, Adams ML, Cicero TJ. Effects of alcohol on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the developing male rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;263:1056 – 61
40. Curtis KM, Savitz DA, Arbuckle TE. Effects of cigarette smoking, caffeine consumption, and alcohol intake on fecundability. *Am J Epidemiol*. 1997;146(1):32–41
41. Younglai EV, Holloway AC, Foster WG. Environmental and occupational factors affecting fertility and IVF success. *Hum Reprod Update* . 2005;11(1):43–57
42. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Bonde JP, et al. Semen quality according to prenatal coffee and present caffeine exposure: two decades of follow-up of a pregnancy cohort. *Hum Reprod*. 2008;23(12):2799–2805
43. Marshburn PB, Sloan CS, Hammond MG. Semen quality and association with coffee drinking, cigarette smoking, and ethanol consumption. *Fertil Steril* 1989;52:162–5.
44. Audrey J. Gaskins, Daniela S. Colaci, Jaime Mendiola, Shanna H. Swan, and Jorge E. Chavarro. Dietary patterns and semen quality in young men *Hum. Reprod.* des298 first published online August 11, 2012
45. Eskenazi B, Kidd SA, Marks AR, Slotter E, Block G, Wyrobek AJ. Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Hum Reprod* 2005;20:1006–1012
46. Mendiola J, Torres-Cantero AM, Vioque J, Moreno-Grau JM, Ten J, Roca M, Moreno-Grau S, Bernabeu R. A low intake of antioxidant nutrients is associated with poor semen quality in patients attending fertility clinics. *Fertil Steril* 2010;93:1128–1133
47. Ross C, Morriss A, Khairy M, Khalaf Y, Braude P, Coomarasamy A, El-Toukhy T. A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility. *Reprod Biomed Online* 2010;20:711–723
48. Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999–2004. *JAMA* 2006;295:1549–55
49. Esposito K, Giugliano F, Di Palo C, Giugliano G, Marfella R, D’Andrea F, et al. Effect of lifestyle changes on erectile dysfunction in obese men: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004;291:2978–84

50. Pasquali R. Obesity and androgens: facts and perspectives. *Fertil Steril* 2006;85:1319–40
51. Messinis IE, Milingos SD. Leptin in human reproduction. *Hum Reprod Update* 1999;5:52–63
52. Strain GW, Zumoff B, Kream J, Strain JJ, Deucher R, Rosenfeld RS, et al. Mild Hypogonadotropic hypogonadism in obese men. *Metabolism* 1982;31:871–5.
53. Jensen TK, Andersson AM, Jorgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, et al. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril* 2004;82:863–70
54. Ivell R. Lifestyle impact and the biology of the human scrotum. *Reprod Biol Endocrinol* 2007;5:15
55. Chavarro JE, Toth TL, Wright DI, Meeker JD & Hauser R. (2010) Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 93, 2222–2231
56. McDonald AA, Herbison GP, Showell M & Feruhar CM. (2010) The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. *Hum Reprod Update* 16, 293–311.
57. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hansen CH, Bonde JP: Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil Steril* 2008, 90:619-626
58. Duits FH, Van Wely M, Van Der Veen F, Gianotten J. Healthy overweight male partners of subfertile couples should not worry about their semen quality. *Fertility and Sterility*. 2010;94(4):1356–1359.
59. Kibar Y, Seckin B, and Erduran D: The effects of subinguinal varicocelelectomy on Kruger morphology and semen parameters. *J Urol* **168**: 1071–1074, 2002.
60. Blumer CG, Restelli AE, Giudice PTD, et al. Effect of varicocele on sperm function and semen oxidative stress. *BJU International*. In press
61. XUE Juan, YANG Jianfu, YAN Jin, et al. Abnormalities of the testis and semen parameters in clinical varicocele, *J South Med Univ*, 2011, 32 (4)
62. Williams DH, Karpman E, and Lipshultz LI: Varicocele: surgical techniques in 2005. *Can J Urol* **13**(suppl 1): 13–17, 2006
63. Argawal A, Deepinder F, Cocuzza M, Argawal R, Short RA, Sabanegh E, Marmar JL. Efficacy of varicocelelectomy in improving semen parameters: new meta-analytical approach. *Urology* 2007; 70:532-8
64. Marmar JL, Agarwal A, Prabakaran S, Agarwal R, Short RA, Benoff S, et al. Reassessing the value of varicocelelectomy as a treatment for male subfertility with a new meta-analysis. *Fertil Steril*. 2007;88:639–48.
65. Baazeem A, Belzile E, Ciampi A, Dohle G, Jarvi K, Salonia A, Weidner W, Zini A. Varicocele and male factor infertility treatment: a new meta-analysis and review of the role of varicocele repair. *Eur Urol*. 2011 Oct; 60(4):796-808. Epub 2011 Jul 5.



66. Evers JL, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: a systematic review. *Lancet*. 2003; 31;361(9372): 1849–52
67. Ficarra V, Cerruto MA, Liguori G, Mazzoni G, Minucci S, Tracia A, Gentile V. Treatment of varicocele in subfertile men: The Cochrane review - a contrary opinion. *Eur Urol* 2006 Feb;49(2):258-63.
68. Evers JL, Collins JA. Surgery or embolisation for varicocele in subfertile men. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;CD000479
69. Purvis K, Christiansen E. Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility *Int J Androl* 1993;16:1-13
70. Zorn B, Auger J, Velikonja V, Kolbezen M, Meden-Vrtovec H. Psychological factors in male partners of infertile couples: relationship with semen quality and early miscarriage. *Int J Androl* 2008; 31: 557–564
71. Fukuda M, Fukuda K, Shimizu T, Yomura W, Shimizu S. Kobe earthquake and reduced sperm motility. *Hum Reprod* 1996; 11: 1244–1246
72. Gold EB, Lasley BL, Schenker MB. Introduction: rationale for an update. Reproductive hazards. *Occup Med* 1994;9:363–72
73. Sharpe RM. Lifestyle and environmental contribution to male infertility. *Br Med Bull* 2000;56:630–42.
74. Hruska KS, Furth PA, Seifer DB, Sharara FI, Flaws JA. Environmental factors in infertility. *Clin Obstet Gynecol* 2000;43:821–9.
75. Tas S, Lauwerys R, Lison D. Occupational hazards for the male reproductive system. *Crit Rev Toxicol* 1996;26:261–307.
76. Figa-Talamanca I, Traina ME, Urbani E. Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. *Occup Med (Lond)* 2001;51:174–88.
77. Baranski B. Effects of the workplace on fertility and related reproductive outcomes. *Environ Health Perspect* 1993;101 Suppl 2:81–90.
78. Paul M. Occupational reproductive hazards. *Lancet* 1997;349:1385–8.
79. Oliva A, Spira A, Multigner L. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Hum Reprod* 2001;16:1768–76
80. Van Thiel DH, Gavalier JS, Smith WI Jr, Paul G. Hypothalamic-pituitary-gonadal dysfunction in men using cimetidine. *N Engl J Med* 1979;300:1012–5.
81. Marmor D. The effects of sulphasalazine on male fertility. *Reprod Toxicol* 1995;9:219–23
82. Fody EP, Walker EM. Effects of drugs on the male and female reproductive systems. *Ann Clin Lab Sci* 1985;15:451–8
83. Beeley L. Drug-induced sexual dysfunction and infertility. *Adverse Drug React Acute Poisoning Rev* 1984;3:23–42
84. Shalet SM. Cytotoxic endocrinopathy: a legacy of insults. *J R Soc Med* 1997;90:192–9

85. Bracken MB, Eskenazi B, Sachse K, McSharry JE, Hellenbrand K, Leo-Summers L. Association of cocaine use with sperm concentration, motility, and morphology. *Fertil Steril* 1990;53:315–22
86. Pasqualotto FF, Lucon AM, Sobreiro BP, Pasqualotto EB, Arap S. Effects of medical therapy, alcohol, smoking and endocrine disruptors on male infertility. *Rev Hosp Clin FaMed Sao Paulo* 2004; 59 (6): 375–382
87. Torres-Calleja J, Gonzalez-Unzaga M, DeCelis-Carrillo R, Calzada-Sanchez L, Pedron N. Effect of androgenic anabolic steroids on sperm quality and serum hormone levels in adult male bodybuilders. *Life Sci* 2001;68:1769–74
88. Jørgensen N, Andersen AG, Eustache F et al. (2001) Regional differences in semen quality in Europe. *Hum Reprod* 16, 1012–1019.
89. Winke T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, Zoller N. The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. *J Assist Reprod Genet.*2009,26; 41-46.
90. Weisberg, E., 1985. Smoking and reproductive health. *Clin. Reprod. Fertil.* 3, 175–186
91. Sakkas, D., Moffatt, O., Manicardi, G.C., Mariethoz, E., Tarozzi, N., Bizzaro, D., 2002. Nature of DNA damage in ejaculated human spermatozoa and the possible involvement of apoptosis. *Biol. Reprod.* 66, 1061–1067
92. Zavos, P.M., Correa, J.R., Karagounis, C.S., Ahparaki, A., Phoroglou, C., Hicks, C.L., Zarmakoupis Zavos, P.N., 1998b. An electron microscope study of the axonemal ultrastructure in human spermatozoa from male smokers and non-smokers. *Fertil. Steril.* 69,430–434.
93. Jensen TK, Jørgensen N, Punab M, Haugen TB, Suominen J, Zilaitiene B *et al.* (2004) Association of *in utero* exposure to maternal smoking with reduced semen quality and testis size in adulthood: a cross-sectional study of 1,770 young men from the general population in five European countries. *Am J Epidemiol* **159**, 49–58.
94. Pasqualotto FF, Sobreiro BO, Hallak J, Pasqualotto EB, Lucon AM. Cigarette smoking is related to a decrease in semen volume in a population of fertile men. *BJU Int* 2006; 97:324-6.
95. Goverde HJ, Dekker HS, Janssen HJ, Bastiaans BA, Rolland R, Zielhuis GA. Semen quality and frequency of smoking and alcohol consumption: an explorative study. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1995;40: 135–8.
96. Nagler HM, Luntz RK, and Martinis FG: Varicocele, in Lipshultz LI, Howards SS (Eds): *Infertility in the Male*. St. Louis, Mosby-Year Book, 1997, p 336.
97. Kamischke A, and Nieschlag E: Varicocele treatment in the light of evidence-based andrology. *Hum Reprod Update* **7**: 65–69, 2001.
98. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Report on varicocele and infertility. *Fertil Steril* 2008;90(Suppl 5): S247–9