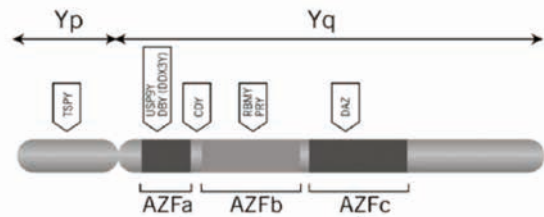


1. Μέτρηση του δείκτη ανευπλοειδισμού (sperm ploidy index)
2. Μέτρηση του ποσοστού απόπτωσης
3. Μέτρηση κι εκτίμηση του DNA fragmentation index (DFI)
4. Μέτρηση αριθμού λευκοκυττάρων στο δείγμα
5. Ανάλυση της δομής του ακροσώματος (acrosome integrity)

Η εφαρμογή της τεχνολογίας της κυτταρομετρίας ροής (flow cytometry) όπως έχει εξελιχθεί σήμερα, αποτελεί τη μέθοδο αναφοράς ("state of the art") στη μελέτη του σπέρματος.



4. Μοριακός γενετικός έλεγχος μικροελλείψεων του χρωμοσώματος Y

Μικρο-ελλείψεις στο χρωμόσωμα Y (delY), δηλαδή η απουσία περιοχών του χρωμοσώματος Y που περιέχουν γονίδια σημαντικά για την σωστή παραγωγή σπερματοζωαρίων, είναι πολλές φορές η αιτία προβλημάτων αναπαραγωγής στους άνδρες.

Οι μικρο-ελλείψεις αυτές, ανάλογα με την περιοχή που λείπει, οδηγούν σε αζωοσπερμία, ολιγοζωοσπερμία ή ολιγο-ασθενο-τερατοσπερμία. Σε γενικές γραμμές, μικροελλείψεις του Y ανιχνεύονται σε ένα ποσοστό περίπου 10% των υπογόνιμων ανδρών με τις παραπάνω ενδείξεις.

Η ανάλυση είναι χρήσιμη καθόσον, πέρα από την αποκάλυψη της αιτιολογίας της υπογονιμότητας, πληροφορεί το ζεύγος για τον κίνδυνο κληρονομικής μεταβίβασης του προβλήματος στα άρρενα τέκνα και το σημαντικότερο, θα βοηθήσει αποτελεσματικά στην αξιολόγηση της ενδεικνυόμενης στρατηγικής IVF.

5. Μοριακός γενετικός έλεγχος ινοκυστικής νόσου

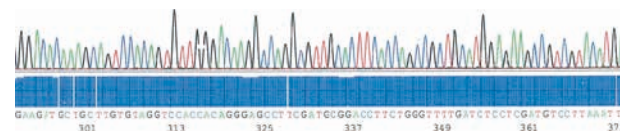
Η ινοκυστική νόσος (cystic fibrosis, CF) είναι το κοινότερο γενετικό νόσημα στο λευκό Καυκάσιο πληθυσμό, με σοβαρές συνέπειες για την υγεία και τη ζωή του ατόμου που πάσχει.

Δυο είναι τα ιδιαίτερα προβλήματα με την ινοκυστική νόσο: α) οι φορείς είναι απόλυτα υγιείς, χωρίς κανένα σύμπτωμα και επομένως χωρίς κάποιο τρόπο να τους αναγνωρίσουμε και β) το γονίδιο (CFTR) είναι σχετικά μεγάλο σε μέγεθος με πάρα πολλές πιθανές μεταλλάξεις (>1500).

Επιπλέον, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο δεν είναι ίδιες σε συχνότητα σε όλους τους πληθυσμούς, με πολύ σημαντικές διαφορές, για παράδειγμα, μεταξύ λαών της Β. Ευρώπης και της Μεσογείου.

Αυτό που έχει ιδιαίτερη σημασία στον έλεγχο της αναπαραγωγής είναι ότι μια συγκεκριμένη κατηγορία ειδικών μεταλλάξεων στο γονίδιο CFTR της ινοκυστικής νόσου στους άνδρες οδηγεί σε συγγενή αμφοτερόπλευρη απουσία σπερματοδόχου πόρου (CBAVD), με εικόνα αποφρακτικής αζωο-ολιγοσπερμίας. Η CBAVD είναι υπεύθυνη για το 1,5% της ανδρικής στειρότητας γενικά, ενώ ~80% των ασθενών με CBAVD έχουν τουλάχιστον μία μετάλλαξη στο γονίδιο CFTR.

Επομένως σε άνδρες με αποφρακτική αζωοσπερμία, πρέπει να εξετασθεί η τυχόν ύπαρξη μεταλλάξεων της ινοκυστικής νόσου για την επιβεβαίωση της συγκεκριμένης βλάβης. Επιπλέον, ο έλεγχος είναι επίσης σημαντικός γιατί εάν βρεθεί κάποια μετάλλαξη, λόγω της μεγάλης συχνότητας φορέων στον πληθυσμό (1/25 άτομα), θα πρέπει οπωσδήποτε να εξετασθεί η μητέρα για να διαπιστωθεί ο κίνδυνος να αποκτήσουν πάσχον παιδί.



6. Μοριακός γενετικός έλεγχος κινδύνου θρομβοφιλίας

Η ιδιοπαθής θρόμβωση είναι μια πολυ-παραγοντική ασθένεια, που εκδηλώνεται όταν ένας άνθρωπος με προδιάθεση για θρόμβωση (π.χ. θρομβοφιλία) εκτίθεται σε κλινικούς παράγοντες κινδύνου.

Η θρομβοφιλία δεν είναι μια ασθένεια αυτή καθαυτή, αλλά μπορεί να σχετίζεται με κάποια πάθηση (π.χ. καρκίνος), την έκθεση σε φάρμακα (π.χ. αντισυλληπτικά), άλλους παράγοντες (π.χ. εγκυμοσύνη ή μετά τον τοκετό) ή μπορεί να είναι κληρονομική.

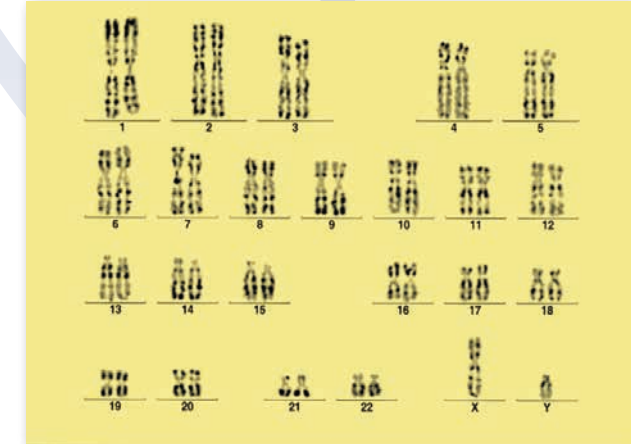
Η θρομβοφιλία μπορεί επίσης να σχετίζεται, σε σχετικά μικρή συχνότητα, με αυτόματες αποβολές και πιθανώς με θνησιγένεια ή άλλες επιπλοκές της κύησης. Επί του παρόντος, δεν υπάρχει μια ενιαία εργαστηριακή εξέταση ή συγκεκριμένο σύνολο εξετάσεων, που να προσδιορίζει όλες τις θρομβοφιλίες.

Για το συνολικό εργαστηριακό έλεγχο της θρομβοφιλίας, συνιστάται διεθνώς να εξετάζονται τα επίπεδα πολλών γνωστών αιμοστατικών

παραγόντων πήξης στο πλάσμα (π.χ. ινωδογόνο, χρόνος προθρομβίνης, κ.α.), καθώς και οι γονότυποι 4-5 συγκεκριμένων μεταλλάξεων/πολυμορφισμών (π.χ. Factor V Leiden και R2, Factor XIII, Prothrombin G20210A, κ.α.), που έχουν συσχετισθεί, σε διαφορετικό βαθμό ο καθένας, με τον γενετικά καθοριζόμενο κίνδυνο για θρομβοφιλία.

Η ανάλυση πολλών άλλων πολυμορφισμών και μεταλλάξεων, που αποδεδειγμένα δεν σχετίζονται με θρομβοφιλία (όπως π.χ. ACE I/D, β-Fibrinogen -455 G>A, APOE e2/e3/e4, ApoB R3500Q, κ.α.), δεν συνιστάται κι οδηγεί σε λανθασμένες εκτιμήσεις.

Τέλος, είναι σημαντικό η τελική έκθεση αποτελεσμάτων του πλήρους εργαστηριακού ελέγχου θρομβοφιλίας, κι ειδικότερα του γενετικού ελέγχου, να αναφέρει τον εκτιμώμενο κίνδυνο, ώστε να διευκολύνεται η άμεση διαχείριση του περιστατικού.



Λεπτομερής διερεύνηση με:

- ✓ *εμπεριστατωμένη κλινική γενετική αξιολόγηση του ιστορικού, που οδηγεί στην ενδεδειγμένη στρατηγική ελέγχου*
- ✓ *διεξοδική ανάλυση χρωμοσωματικών ανωμαλιών με τεχνικές υψηλής διακριτικότητας*
- ✓ *ειδικά προσαρμοσμένη ανάλυση μεταλλάξεων ινοκυστικής νόσου*
- ✓ *σύνθετο έλεγχο του σπέρματος με κυτταρομετρία ροής*

Η υπογονιμότητα είναι σήμερα ένα από τα σοβαρότερα, συχνότερα ιατρικά και κοινωνικά προβλήματα. Τα στατιστικά στοιχεία μιλούν από μόνα τους:

- 1/6 ζευγάρια αντιμετωπίζουν προβλήματα αναπαραγωγής
- 1/3 γυναίκες πάνω από τα 35 είναι υπογόνιμες
- 1/25 άντρες αντιμετωπίζει προβλήματα σπέρματος

Σε ποσοστό ~80% το πρόβλημα το έχει μόνο ένας από τους δυο συντρόφους (εξίσου), σε ~10% των περιπτώσεων αντιμετωπίζουν προβλήματα κι οι δύο, ενώ στο υπόλοιπο ~10% το πρόβλημα είναι άγνωστο. Αυτό που έχει σημασία, είναι ότι στα 2/3 των περιπτώσεων που το πρόβλημα έχει διαγνωσθεί, υπάρχει λύση κι αποκτούν παιδί.

Ο γενετικός έλεγχος σε ζευγάρια με προβλήματα αναπαραγωγής (αποβολές, προβλήματα σπέρματος, επαναλαμβανόμενες αποτυχημένες προσπάθειες εξωσωματικής γονιμοποίησης κ.α.) σχεδιάζεται ανάλογα με τις ενδείξεις.

Ο γενετικός έλεγχος περιλαμβάνει διαφορετικές εξετάσεις, όπως:

1. Καρυότυπος λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος

Η εξέταση αυτή γίνεται σε άτομα με προβλήματα όπως η ανδρική ή γυναικεία υπογονιμότητα με γνωστή ή άγνωστη αιτιολογία και σε ζευγάρια με πολλαπλές αποβολές, ιδιαίτερα του 1^{ου} τριμήνου.

Είναι δυνατόν στον καρυότυπο του εξεταζόμενου να βρίσκεται μια αριθμητική ανωμαλία των φυλετικών χρωμοσωμάτων Χ και Υ, σε όλα τα κύτταρα ή σε κάποιο ποσοστό, που προκαλεί κυρίως προβλήματα αναπαραγωγής.

Επίσης είναι δυνατόν στον καρυότυπο να βρίσκονται ισοζυγισμένες δομικές ανωμαλίες, π.χ. μετατοπίσεις ή αναστροφές χρωμοσωμάτων, που σημαίνει ότι, αν και δε συντρέχει κίνδυνος για τον ίδιο, ο εξεταζόμενος είναι φορέας (σε κάποιο ποσοστό) ανισόζυγων γαμέτων, που όταν γονιμοποιηθούν δημιουργούν έμβρυα με μη-ισοζυγισμένο γενετικό υλικό, που μετά συνήθως γρήγορα αποβάλλονται αλλά και (σπανιότερα) φτάνουν στη γέννηση κι είναι παθολογικά.

Λόγω της ιδιαίτερης αξίας της εξέτασης, συνιστάται διεθνώς να γίνεται σε όλα τα ζευγάρια με προβλήματα αναπαραγωγής, ιδιαίτερα μάλιστα σε αυτά που οδηγούνται σε εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF).



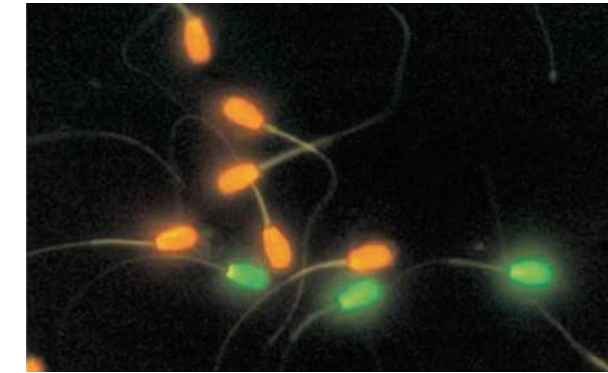
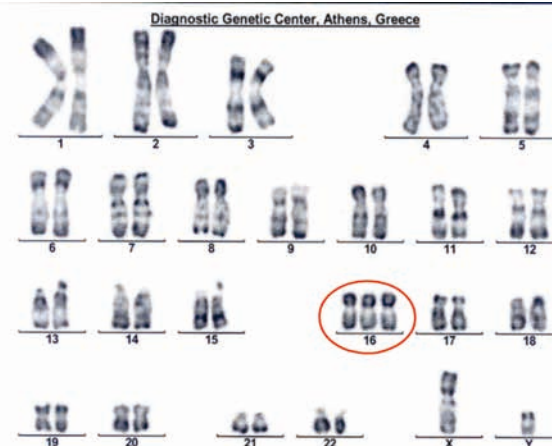
2. Καρυότυπος προϊόντων αποβολών

Η εξέταση αυτή είναι ιδιαίτερα πολύτιμη για τη διαπίστωση χρωμοσωματικών ανωμαλιών, που είναι η αιτία για 60% των αποβολών του 1^{ου} τριμήνου και 20% του 2^{ου} τριμήνου.

Το 95% αυτών των ανωμαλιών στα προϊόντα αποβολών είναι αριθμητικές ανωμαλίες (ένα λιγότερο ή περισσότερο χρωμόσωμα), εμφανίζονται για πρώτη φορά στην οικογένεια κι επομένως είναι σποραδικές και στις περιπτώσεις αυτές οι καρυότυποι των γονέων είναι φυσιολογικοί. Στο υπόλοιπο 5% βρίσκεται μια δομική χρωμοσωματική ανωμαλία στο έμβρυο, που συνήθως κληρονομείται από έναν υγιή γονέα-φορέα.

Αν διαπιστωθεί ανωμαλία στα χρωμοσώματα, τότε η αιτία της αποβολής έχει καθορισθεί και κάθε άλλη μη-γενετική διερεύνηση στο ζευγάρι είναι δευτερεύουσας σημασίας κι αποφεύγεται η παραπομπή σε άλλες χρονοβόρες και πολυδάπανες εξετάσεις. Είναι εύκολα λησιπών κατανοητό γιατί έχει ιδιαίτερη αξία ο καρυοτυπικός έλεγχος όλων των προϊόντων αποβολών.

Σημειώνεται ότι ο καλύτερος ιστός για την κυτταρογενετική ανάλυση των προϊόντων αποβολής είναι οι χοριονικές λάχνες, που η λήψη τους πρέπει να γίνεται με τρόπο ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα μητρικής επιμειξίας.



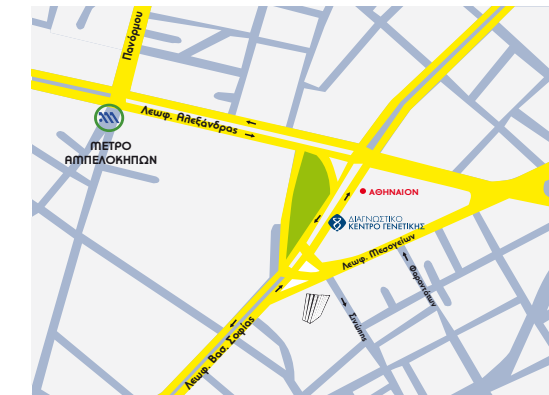
3. Ανάλυση σπέρματος με κυτταρομετρία ροής

Είναι γνωστό ότι, μεταξύ άλλων, γενετικές κι επιγενετικές βλάβες επιδρούν στην “ποιότητα” του σπέρματος κι οδηγούν σε ανδρική υπογονιμότητα.

Για παράδειγμα αυξημένο ποσοστό ανευπλοειδισμού στο σπέρμα απαντάται με σχετικά μεγάλη συχνότητα στους υπογόνιμους άνδρες, ειδικότερα σε αυτούς με μη-αποφρακτική αζωοσπερμία, ενώ αυξημένο ποσοστό απόπτωσης στο σπέρμα (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος), αντίθετα, οδηγεί σε πληθυσμό σπερματοζωαρίων με χαμηλή δυνατότητα γονιμοποίησης και συντήρησης του αναπτυσσόμενου εμβρύου στα πρώιμα στάδια.

Οι μέχρι σήμερα κοινά εφαρμοζόμενες εργαστηριακές τεχνικές (FISH) για τη μελέτη ανευπλοειδισμού κι απόπτωσης στο σπέρμα, έχουν σημαντικούς περιορισμούς, όπως τα ιδιαίτερα ακριβά αντιδραστήρια, τον μεγάλο χρόνο επεξεργασίας, την αδυναμία εφαρμογής σε μεγάλο αριθμό σπερματοζωαρίων, κ.α. Επομένως, η εργαστηριακή διερεύνηση των παραπάνω παραμέτρων μέχρι σήμερα παραμένει σε μεγάλο βαθμό υποκειμενική κι ατελής.

Αντίθετα, η ανάλυση του σπέρματος με κυτταρομετρία ροής (flow cytometry) επιτρέπει, για παράδειγμα, την ταυτόχρονη, αντικειμενική κι ακριβή:



Βασ. Σοφίας 120, 11526 Αθήνα

T/ 2107705010 • 2107756588
T/ 2107705125 • 2104177919
F/ 2107705011

info@intergenetics.eu
www.intergenetics.eu

