

# Χειρουργική αντιμετώπιση υπογονιμότητας

Φώτης Δημητριάδης, MD, PhD, FEBU

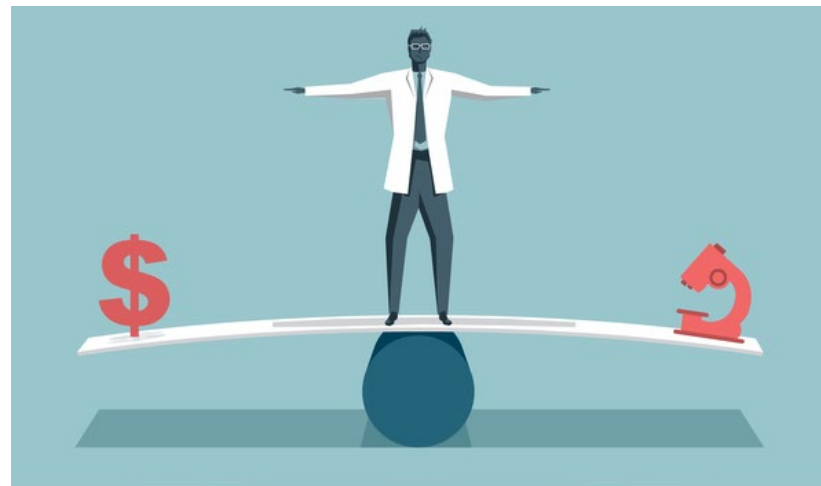
Επ. Καθηγητής Ουρολογίας

Α' Ουρολογική Κλινική

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

# Δήλωση σύγκρουσης συμφερόντων

**Δεν έχω να δηλώσω καμία**



# Κιρσοκήλη

Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

Αποφρακτική αζωοσπερμία

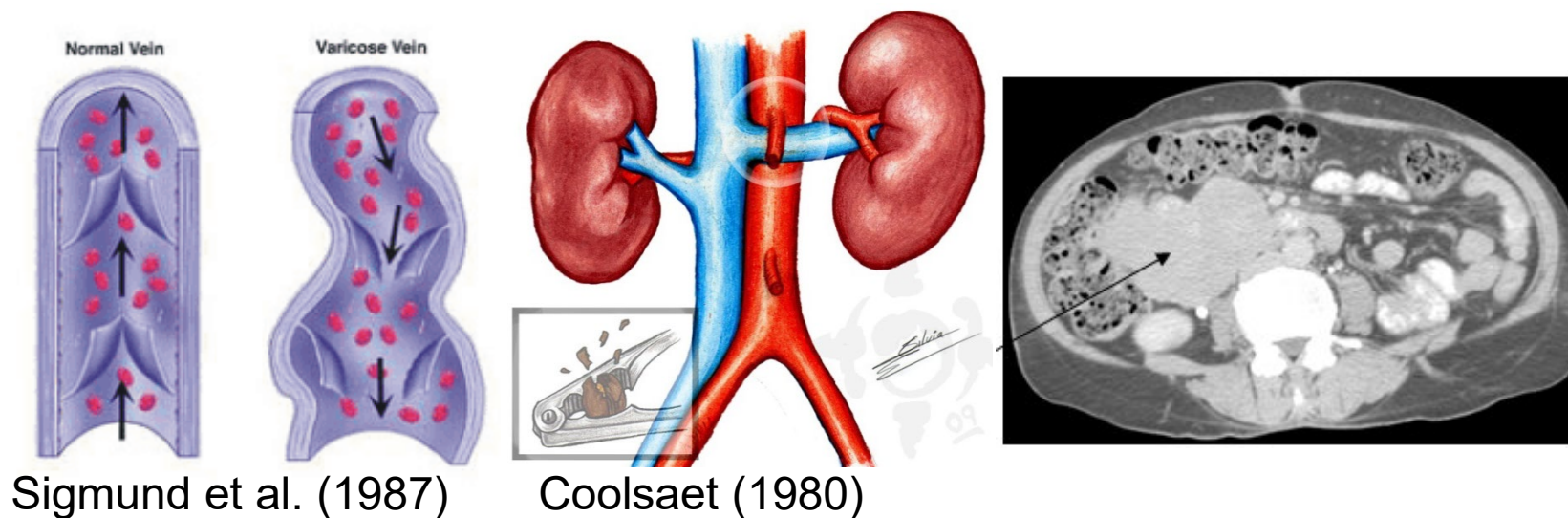
# Κιρσοκήλη

Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

Αποφρακτική αζωοσπερμία

## ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

- Η απουσία ή ανεπάρκεια των βαλβίδων της αριστερής έσω σπερματικής φλέβας
- Η συμπίεση της αριστερής νεφρικής φλέβας ανάμεσα στην άνω μεσεντέριο αρτηρία και την κοιλιακή αορτή (φαινόμενο καρυοθραύστη)
- Όγκοι του νεφρού ή του οπισθοπεριτοναίου



## ΕΝΤΟΠΙΣΗ

- **Αριστερά:** υγιείς 15% υπογόνιμοι 40%
- **Δεξιά:** 2%
- **Αμφοτερόπλευρα:** υγιείς <10%  
υπογόνιμοι έως και 80.7%

Chan and Goldstein 2002 Gat et al. 2004

Turek P. Smith's General Urology 17th edit 2008

## ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

- **Αυξημένη οσχεϊκή θερμοκρασία**
- **Φλεβική στάση-αυξημένη υδροστατική πίεση**
- **Μειωμένη οξυγόνωση – παραγωγή ROS**
- **Ενδοκρινολογικές διαταραχές και/ή τοξικοί μεταβολίτες από τα επινεφρίδια ή τους νεφρούς**

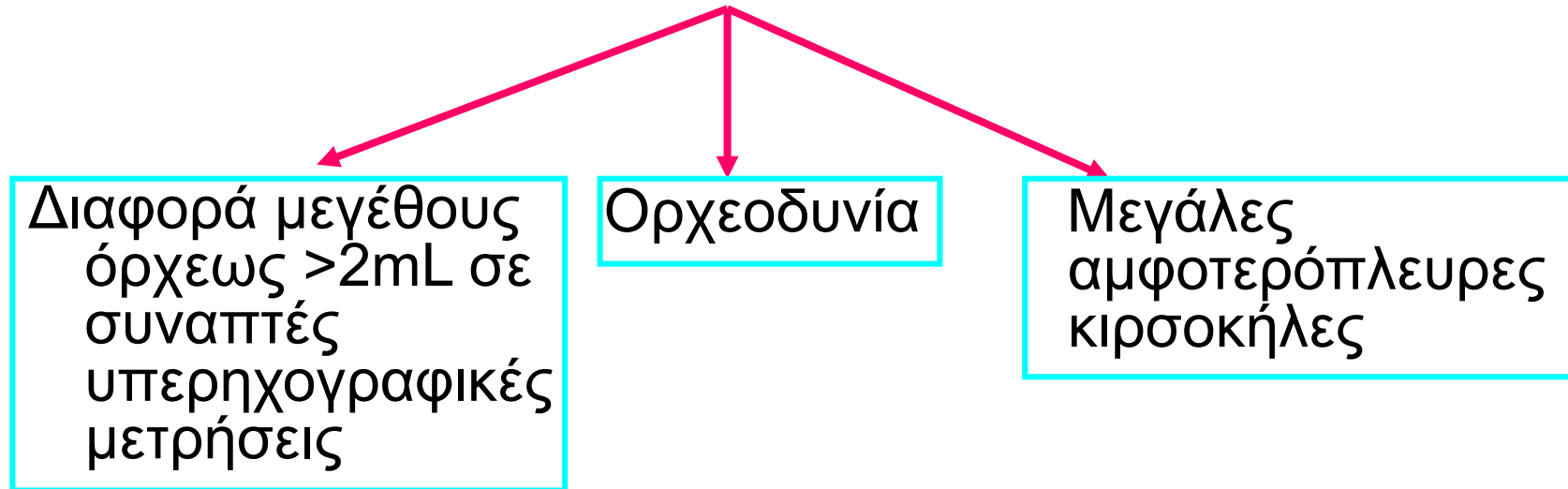
**Brown et al, 1967 Comhaire, 1991;  
Wright et al, 1997, Mieusset and Bujan, 1995**

## ΠΟΤΕ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΜΕ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ

- Η κύρια ένδειξη για την θεραπεία της κισσοκήλης στους ενήλικες είναι η υπογονιμότητα
- Ο οσχεϊκός βύθιος πόνος, η οσχεϊκή δυσφορία, η αισθητική εικόνα δεν οδηγούν συχνά στην αποκατάσταση της βλάβης



## ΠΟΤΕ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥΜΕ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ



**Skoog et al. Pediatrics 1997; 100(1):112–121**

Η καταλληλότερη θεραπευτική προσέγγιση:  
μικροχειρουργική αποκατάσταση

**Schiff et al. BJU Int 2005; 95(3):399–402**

## ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Μέθοδοι	% Εγκυμοσύνης	Υποτροπή %	Υδροκήλη %
Palomo	37.69	14.97 (1.05-35)	8.24 (6.4-10)
Μικροχειρουργική	41.97	1.05 (0-1.4)	0.44 (0-1.6)
Ivanissevich	36	2.63 (0-37)	7.3 (7.3)
Ακτινολογική	33.2	12.7 (2-24)	-
Λαπαροσκοπική	30.07	4.3 (2.17-7.14)	2.84 (0-9.4)

Μετα ανάλυση 36 μελετών από το 1980-2008

## Παράγοντες που καθορίζουν την αύξηση του ποσοστού αυθόρμητης κύησης

Journal of Andrology, Vol. 30, No. 1, January/February 2009  
Copyright © American Society of Andrology

### **Treatment of Palpable Varicocele in Infertile Men: A Meta-analysis to Define the Best Technique**

**Review**

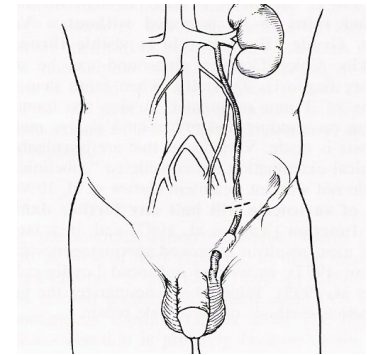
SELAHITTIN ÇAYAN,\* SHAVKAT SHAVAKHABOV,† AND ATEŞ KADIOĞLU†

38% αυθόρμητης εγκυμοσύνης σε meta-analysis με την τεχνική Palomo και 42% με την μικροχειρουργική τεχνική.

## Οπισθοπεριτοναϊκή προσπέλαση

Υψηλή απολίνωση- τεχνική Palomo

- ανεύρεση της σπερματικής  
πάνω από το έσω βουβωνικό στόμιο ( ένας κλάδος )



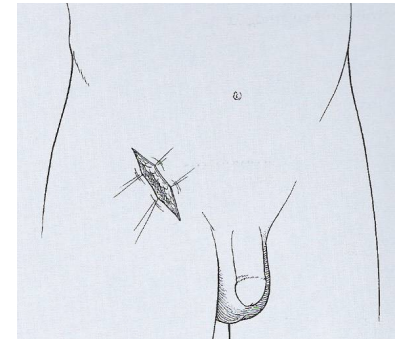
## Βουβωνική προσπέλαση

Κλασική βουβωνική- τεχνική Ivanissevich

- προσπέλαση των φλεβών στο βουβωνικό πόρο

Χαμηλή βουβωνική- τεχνική Bernardi

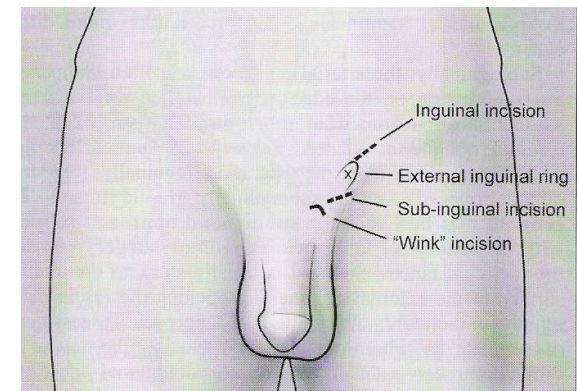
- προσπέλαση στο κατώτερο τμήμα του βουβωνικού πόρου



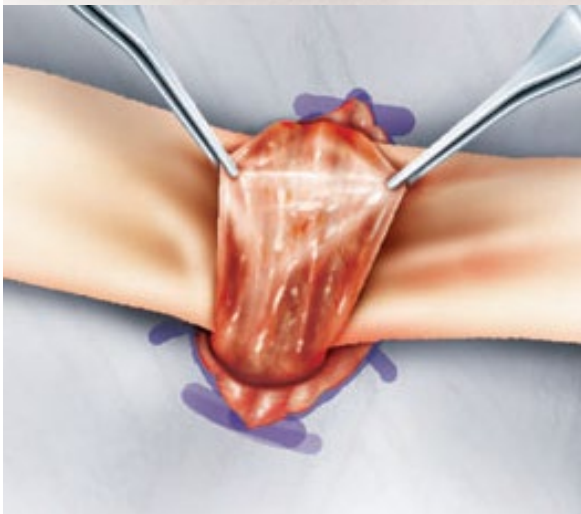
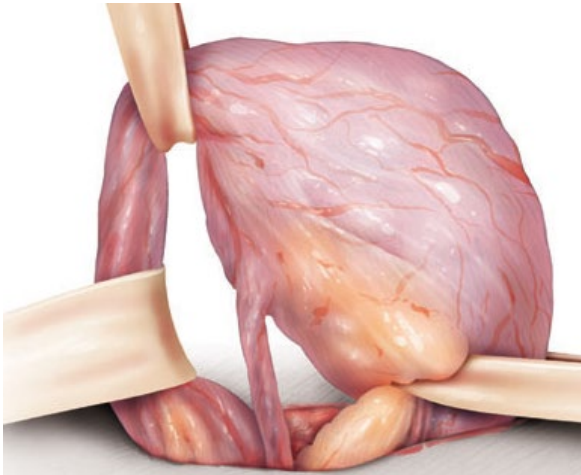
## Υποβουβωνική προσπέλαση

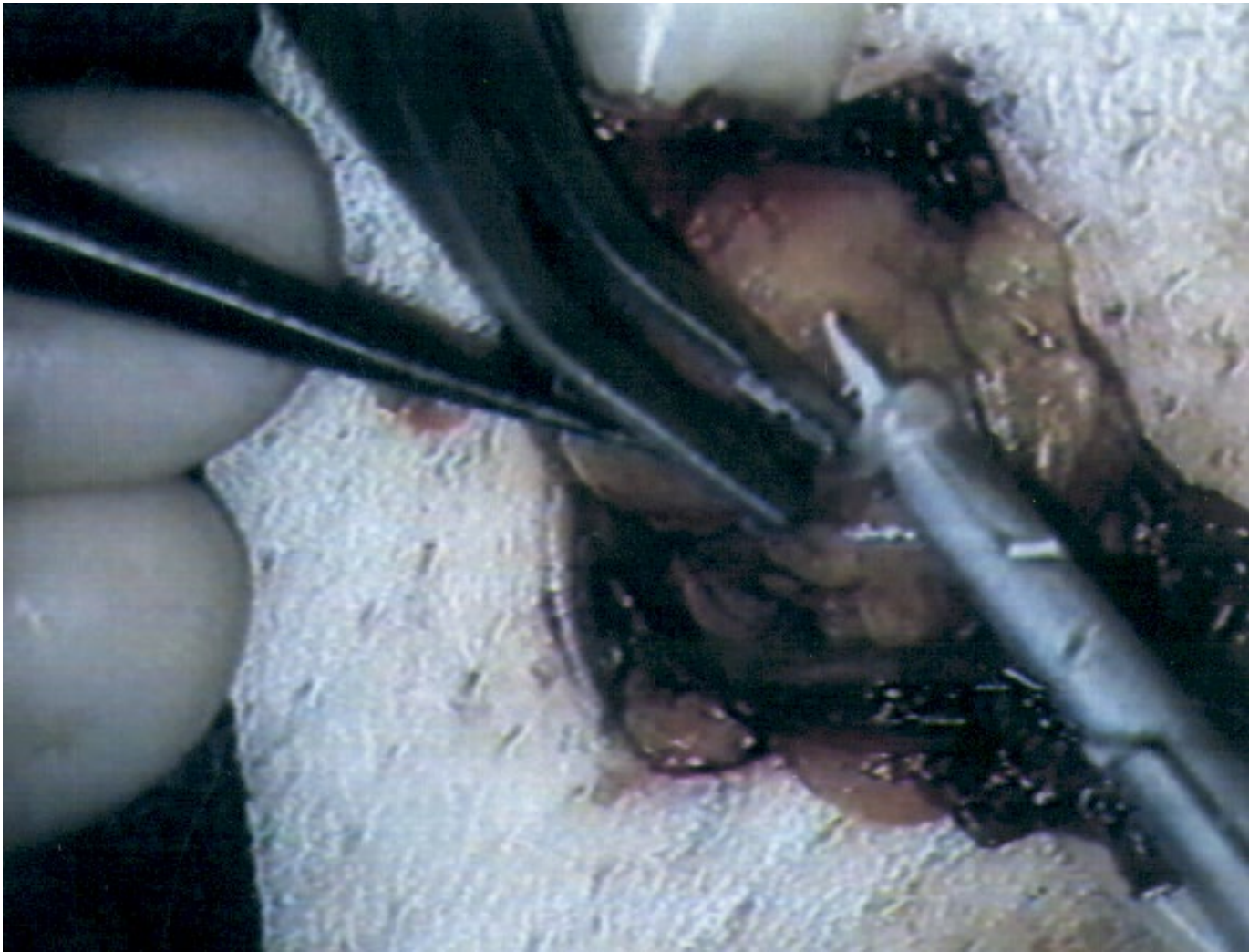
Τεχνική Marmar

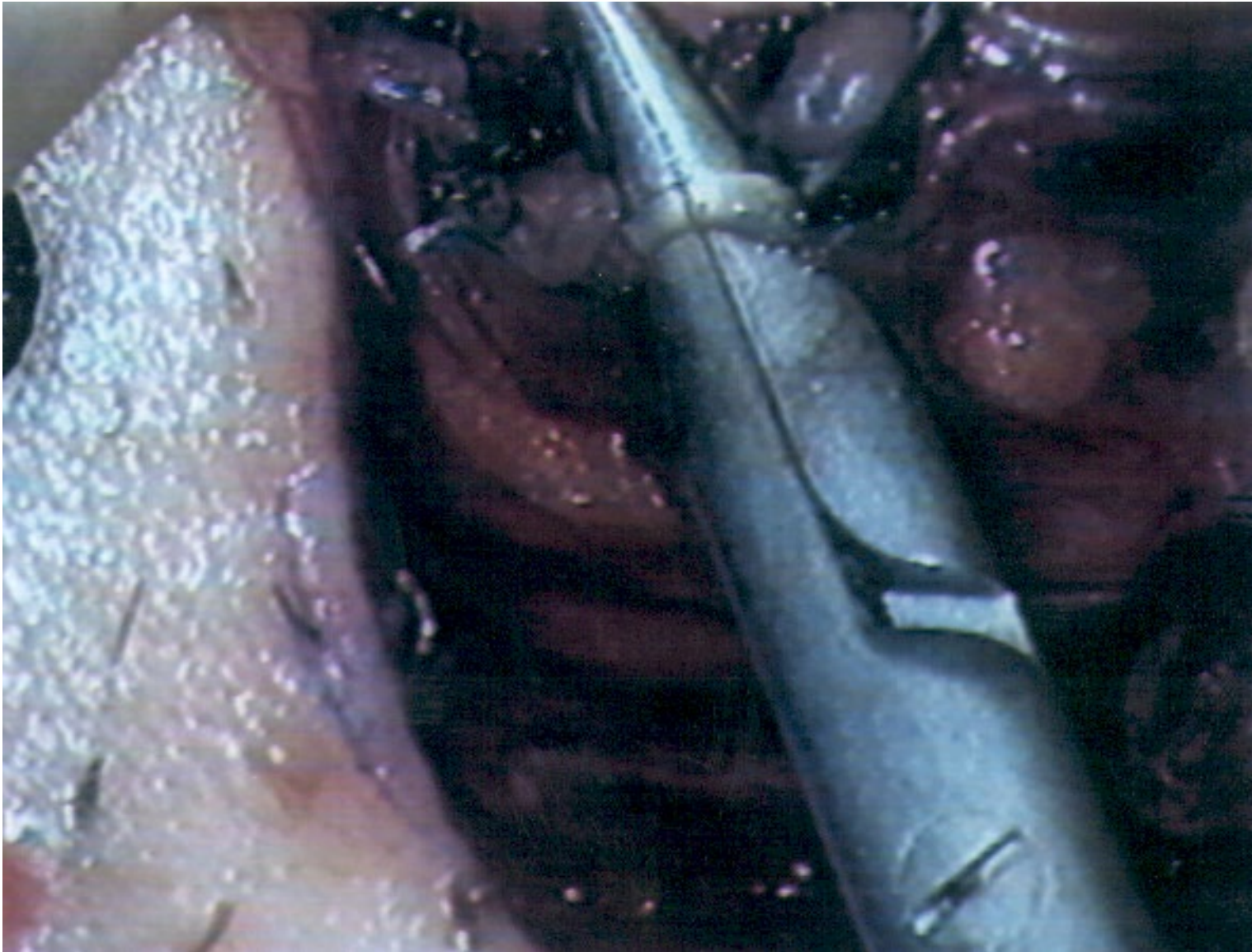
- προσπέλαση στον τόνο κάτω από  
το έξω βουβωνικό στόμιο

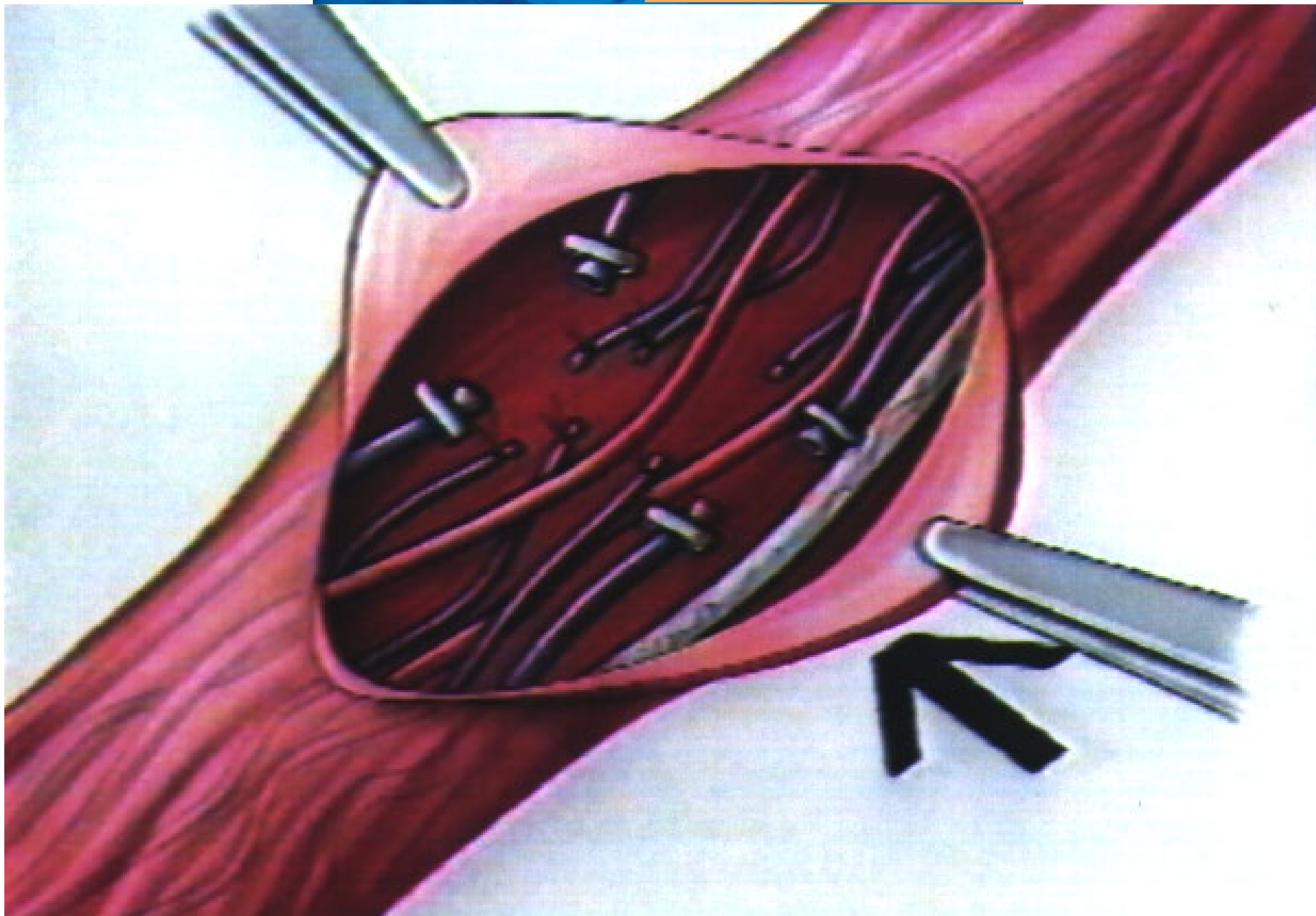


**Μικροχειρουργικές** χαμηλές βουβωνικές και υποβουβωνικές επεμβάσεις με τη βοήθεια χειρουργικού μικροσκοπίου











## Παράγοντες που καθορίζουν την αύξηση του ποσοστού αυθόρμητης κύησης

FERTILITY AND STERILITY®  
VOL. 75, NO. 5, MAY 2001  
Copyright ©2001 American Society for Reproductive Medicine  
Published by Elsevier Science Inc.  
Printed on acid-free paper in U.S.A.

### Microsurgical varicocelectomy in the era of assisted reproductive technology: influence of initial semen quality on pregnancy rates

*Khaled M. Kamal, M.D., Keith Jarvi, M.D., and Armand Zini, M.D.*

Άνδρες με συγκέντρωση >5.000.000 έχουν μεγαλύτερο ποσοστό αυθόρμητης εγκυμοσύνης

Άνδρες με κισσοκήλη και φυσιολογικό σπερμοδιάγραμμα δεν θα έχουν κάποιο όφελος από την επέμβαση σε ότι αφορά το ποσοστό εγκυμοσύνης

Nilsson et al. Br J Urol 1979,  
Breznik et al. Arch Androl 1993

## Παράγοντες που καθορίζουν την αύξηση του ποσοστού αυθόρμητης κύησης

Άνδρες με **υποκλινική κισσοκήλη** δεν θα έχουν κάποιο όφελος από την επέμβαση σε ότι αφορά το ποσοστό εγκυμοσύνης

Ζευγάρια με διάρκεια υπογονιμότητας **>2έτη** θα έχουν μεγαλύτερο όφελος από την επέμβαση σε ότι αφορά το ποσοστό εγκυμοσύνης

Η **αμφοτερόπλευρη διόρθωση κισσοκήλης** είχε μεγαλύτερη αύξηση στο ποσοστό αυθόρμητης εγκυμοσύνης από ότι η μονόπλευρη διόρθωση κισσοκήλης ή η παρακολούθηση χωρίς θεραπεία (48% vs 31% vs 15%)

**Baazeem** et al. BJUI 2009, **Libman** et al. J. Urol 2006,  
**Pasqualotto** et al. J Ass Repr Gen 2005  
**Giagulli** et al. Int J Androl **2011****Grasso** et al. BJU Int 2000,  
**Yamamoto** et al. J Urol 1996, **Unal** et al. Int J Urol 2001

Κιρσοκήλη

**Μη αποφρακτική αζωοσπερμία**

Αποφρακτική αζωοσπερμία

# Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

Πρωτοπαθής, δευτεροπαθής  
Συγγενής ή επίκτητη

## **Αίτια:**

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Klinefelter, Y chr microdeletions)

Λοιμώξεις (ορχίτιδα σε παιδική ηλικία)

Νεοπλασίες

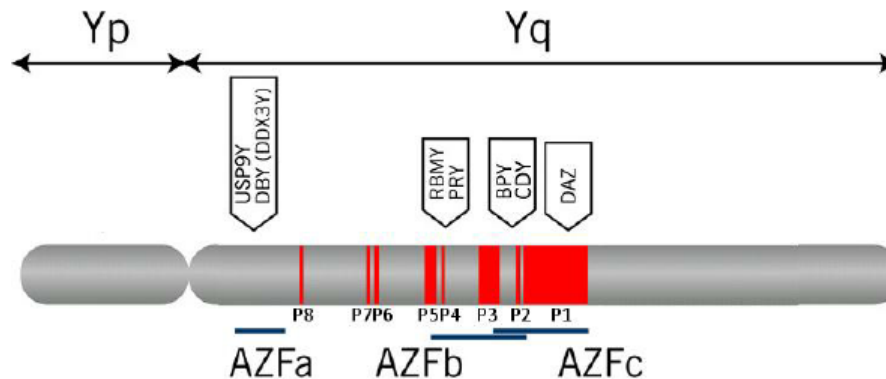
Ενδοκρινοπάθειες

Ιδιοπαθής

# Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

## Παρατηρήσεις

- Σχετικά με τις γενετικές ανωμαλίες, η **ολική έλλειψη της περιοχής AZFa και AZFb**, αποτελούν αντένδειξη για βιοψία.



# Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

## Παρατηρήσεις

Συνιστάται ανάκτηση σπερματοζωαρίων **απευθείας από τον όρχη** (TESE, mTESE).

Σπερματοζωάρια μπορούν να βρεθούν σε περίπου **30-60%**

# Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

## Παρατηρήσεις

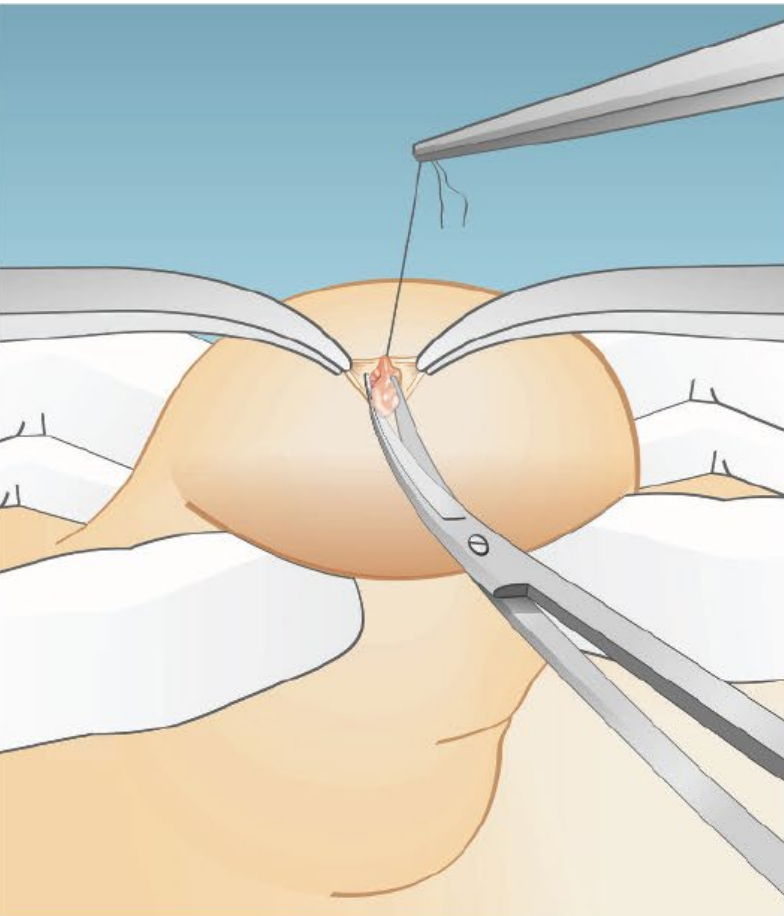
- Η επανάληψη της βιοψία του όρχι με την ίδια ή με άλλη τεχνική βασίζεται σε μικρές σειρές περιστατικών με ποσοστά επιτυχίας από 30% για την TESE μέχρι 82% για την micro-TESE

Haimov-Kochman, R., et al., Fertil Steril, 2009. 91(4 Suppl): p. 1401-3

Ramasamy, R., et al., J Urol, 2011. 185(3): p. 1027-31

Vernaev, V., et al., Hum Reprod, 2006. 21(6): p. 1551-4

## Testicular Sperm Extraction (TESE)



- Χωρίς αποκάλυψη του όρχη
- Ένα ή πολλαπλά ιστοτεμάχια 5x5mm με ψαλίδι σε μέσο έκπλυσης σπερματοζωαρίων
- Στον άνω μέσο και κάτω πόλο του όρχη



## Single Seminiferous Tubule Biopsy

- Παραλλαγή της TESE με αποκάλυψη του όρχη.
- Τρυπάμε σε ανάγγειο περιοχή με βελόνα 26-gauge.
- Με ψαλίδι μικροχειρουργικής διευρύνω το άνοιγμα και επιλέγω ένα σπερματικό σωληνάριο.
- Επαναλαμβάνω σε διάφορα σημεία.

## Testicular Sperm Extraction (TESE) Single Seminiferous Tubule Biopsy

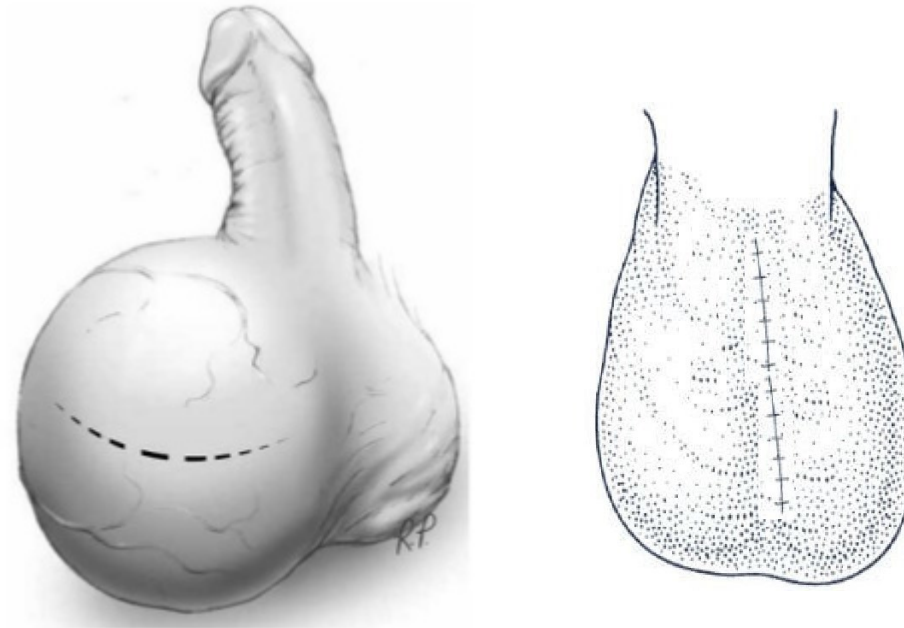
### Πλεονεκτήματα

- Δεν χρειάζεται εξειδίκευση και είναι επαναλήψιμη

### Μειονεκτήματα

- Ανακτά μικρή ποσότητα σπερματοζωαρίων (SSTB)
- Κίνδυνος ορχικής ατροφίας (TESE)
- Μετεγχειρητικό άλγος
- Η SSTB δεν έχει δοκιμαστεί σε μεγάλες σειρές

## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)

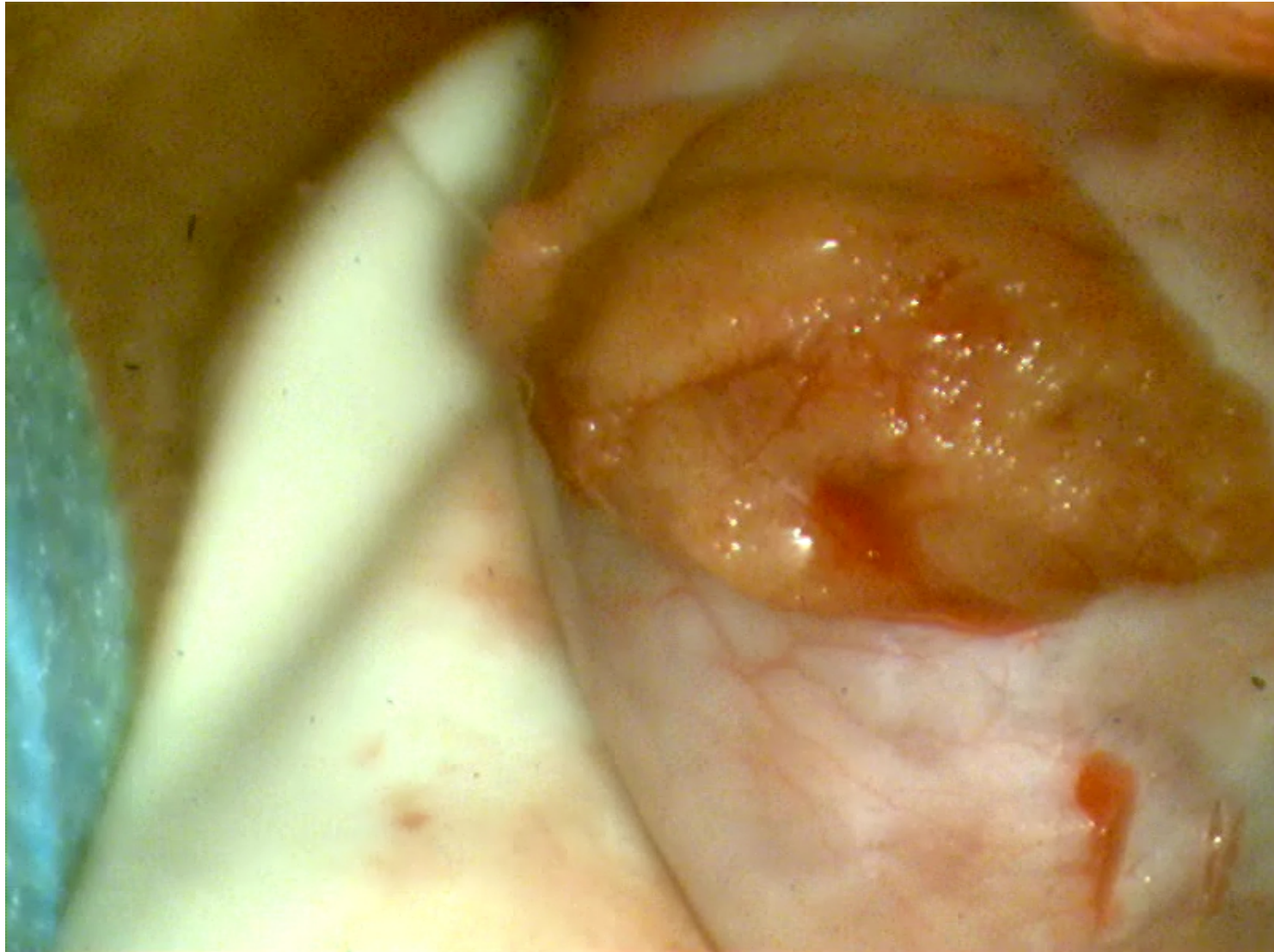


- Αποκάλυψη του όρχη

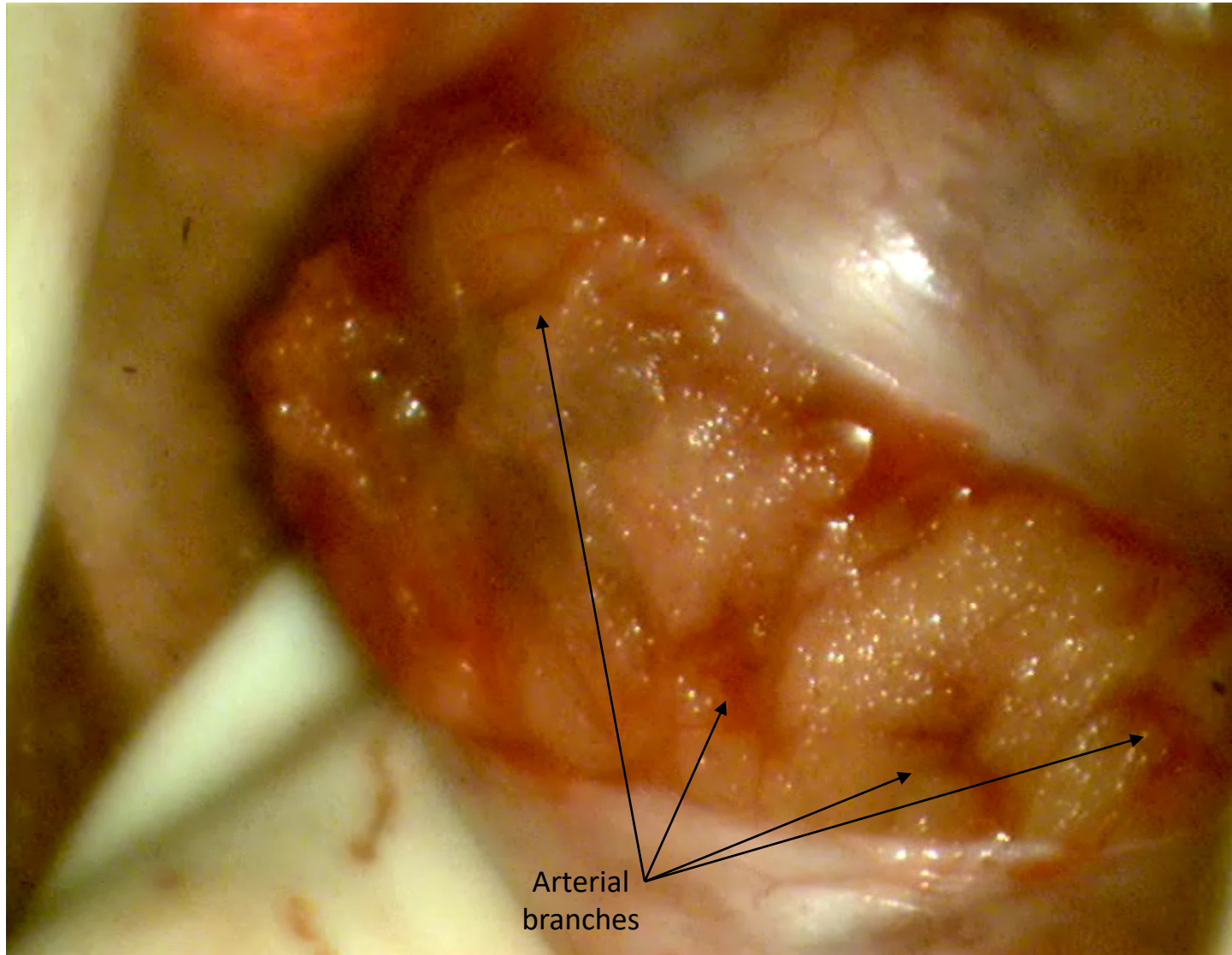
## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



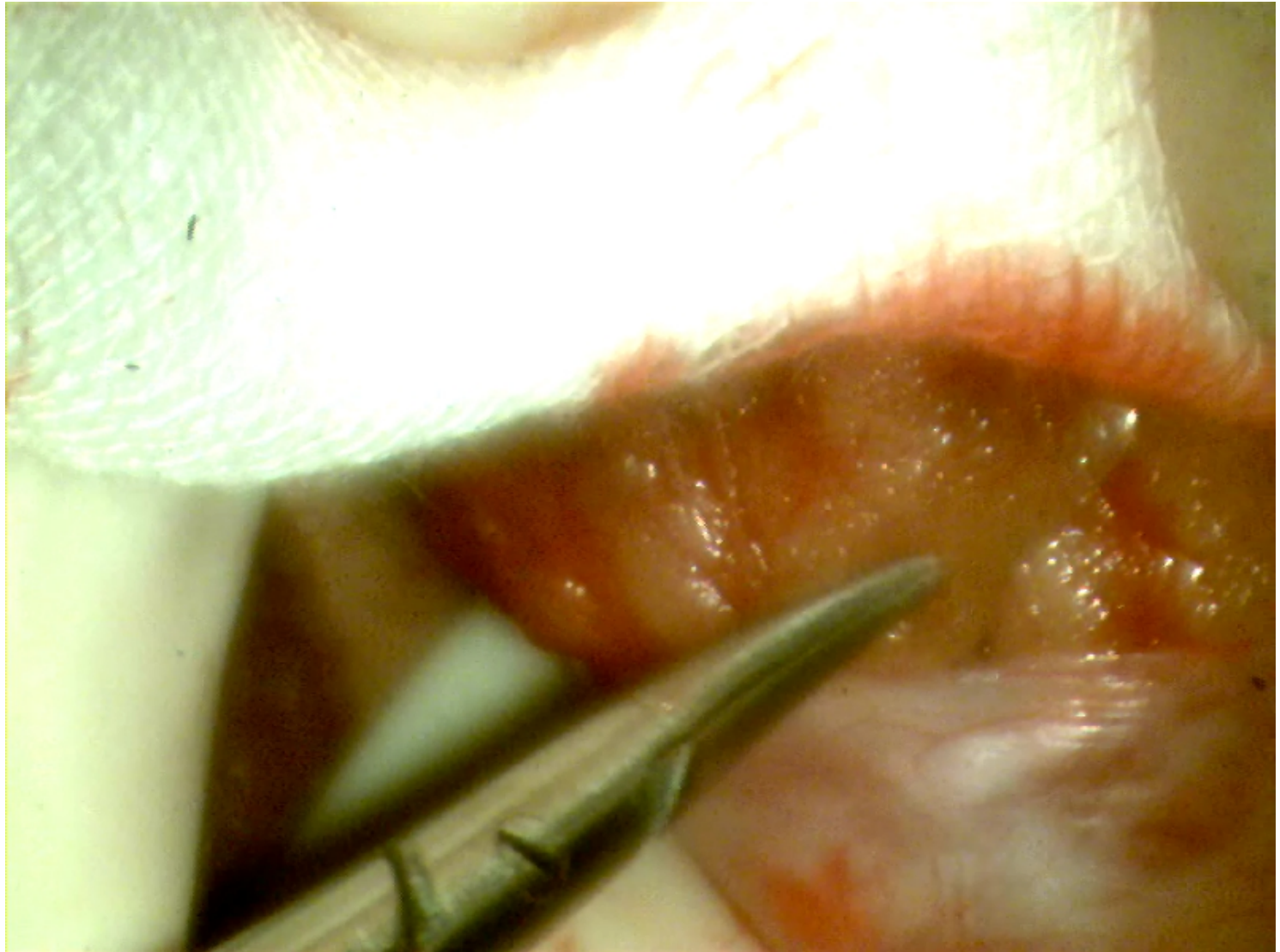
## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)

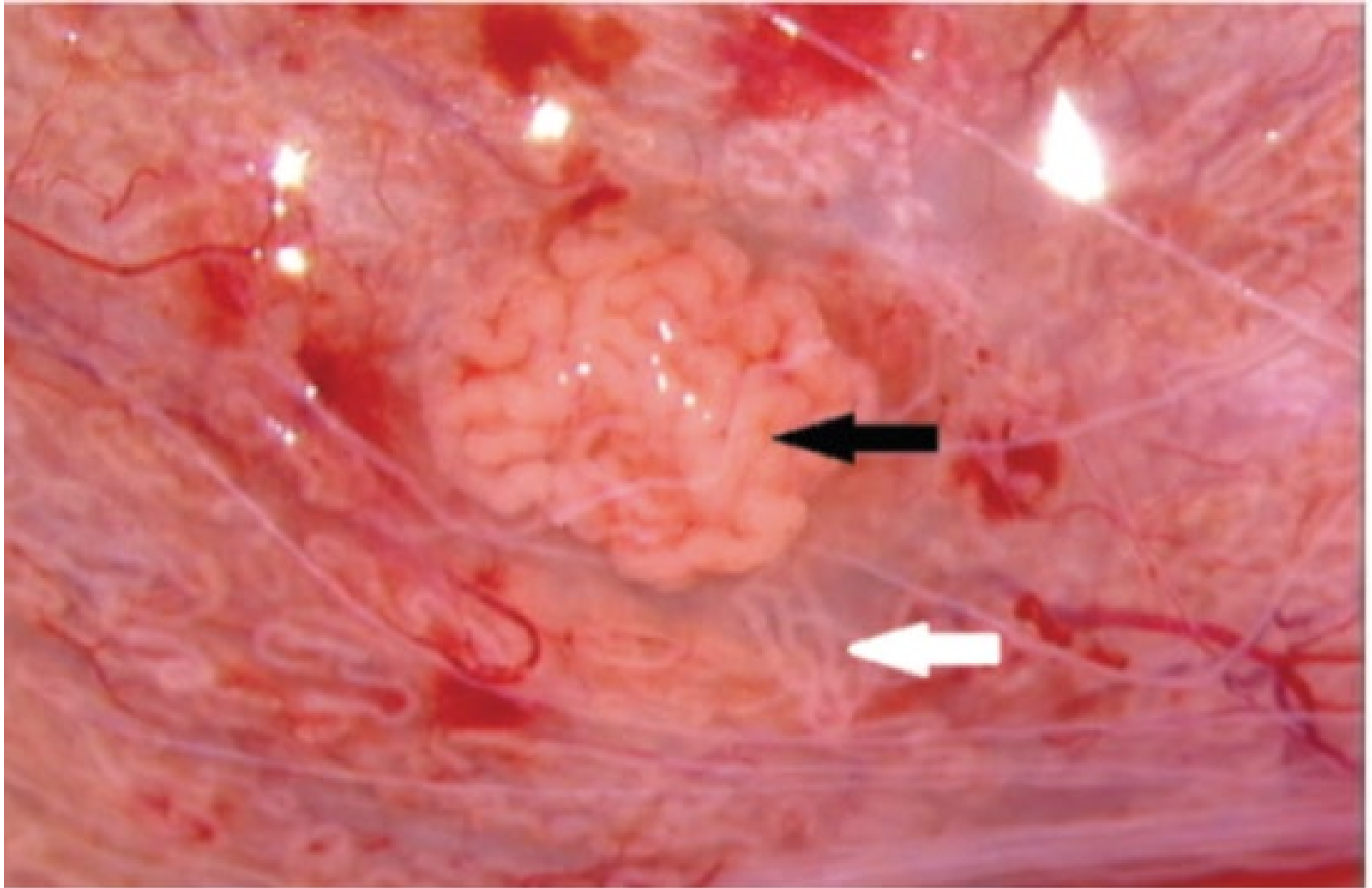


## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)

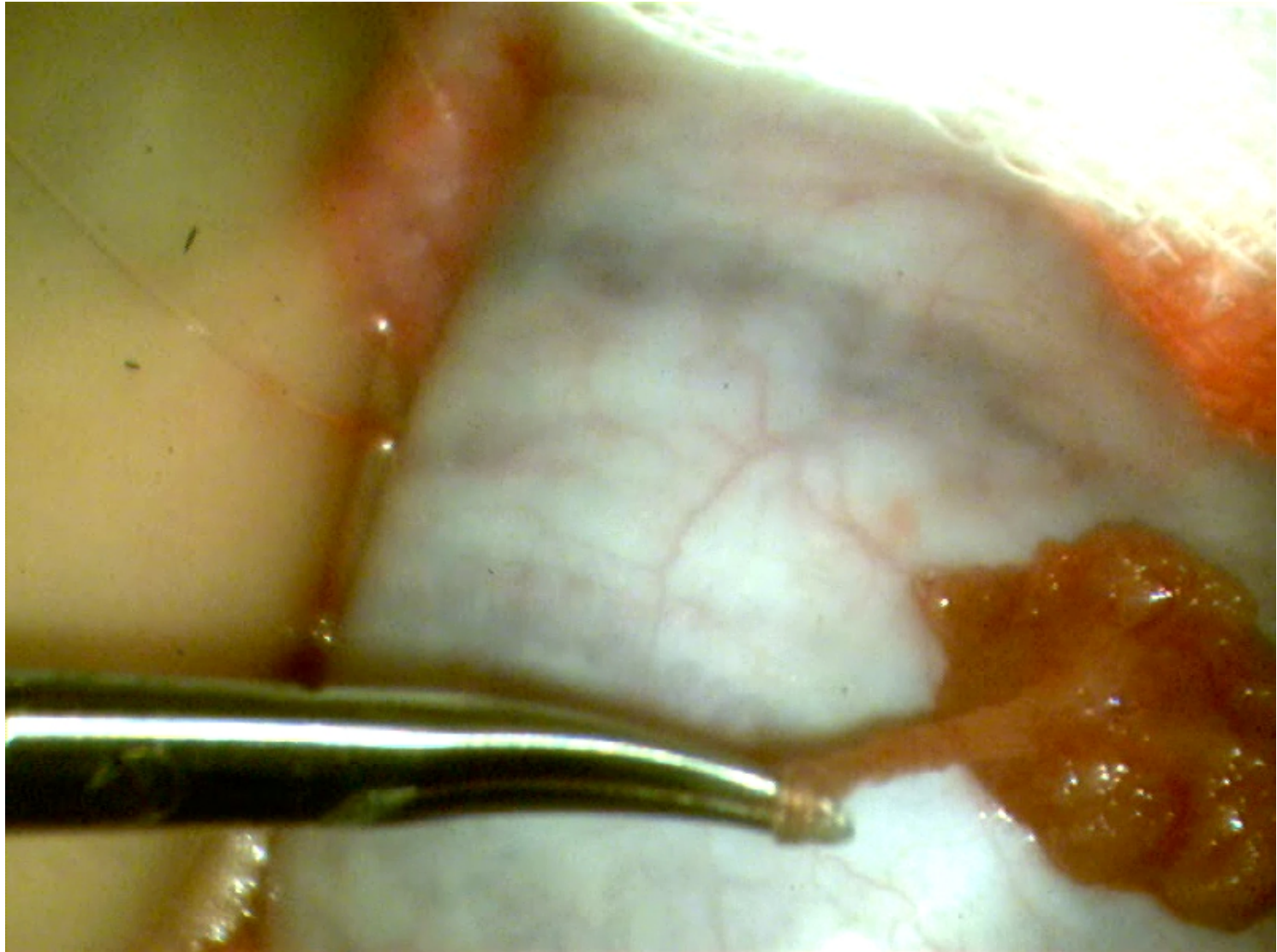




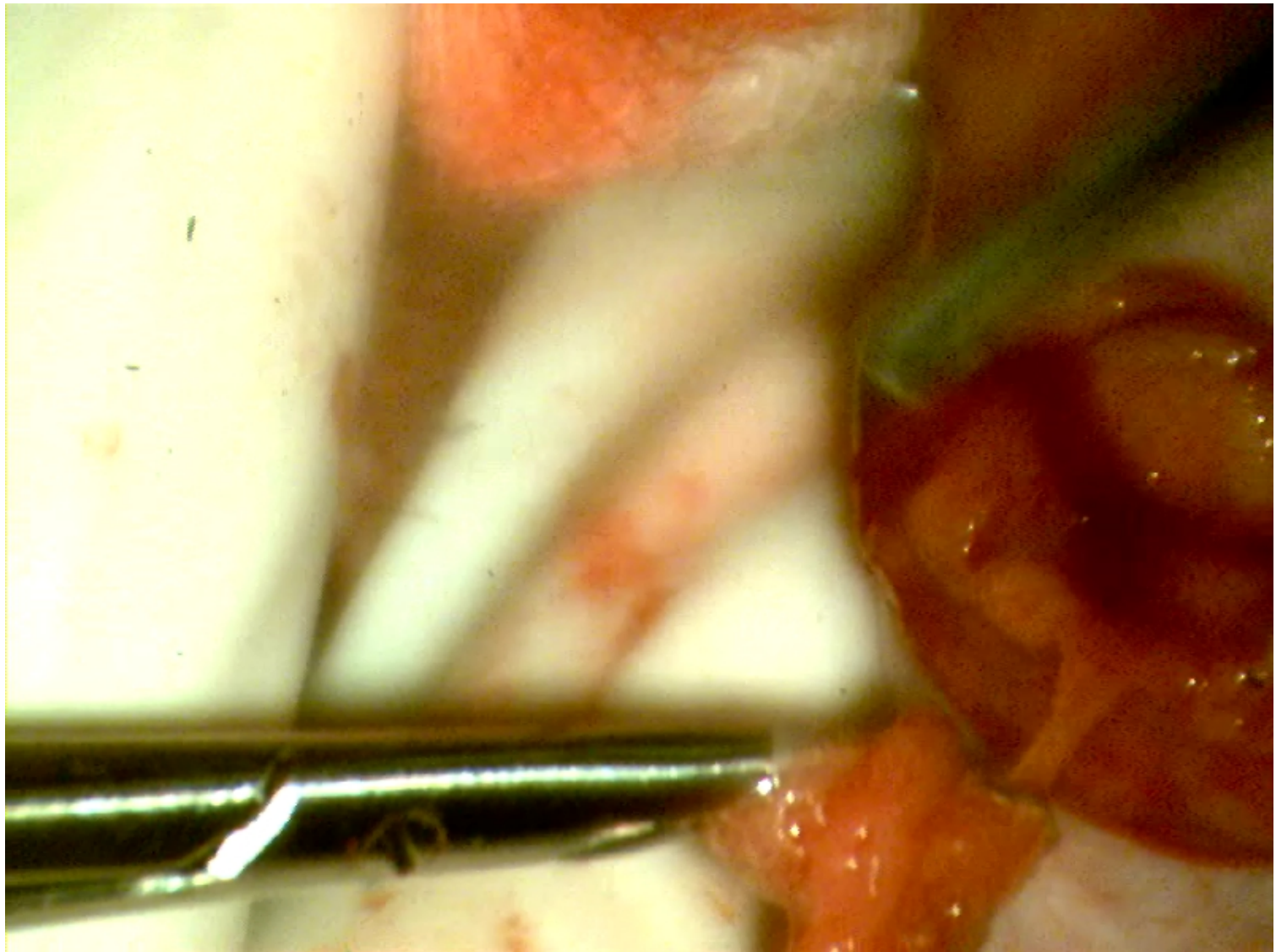
## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



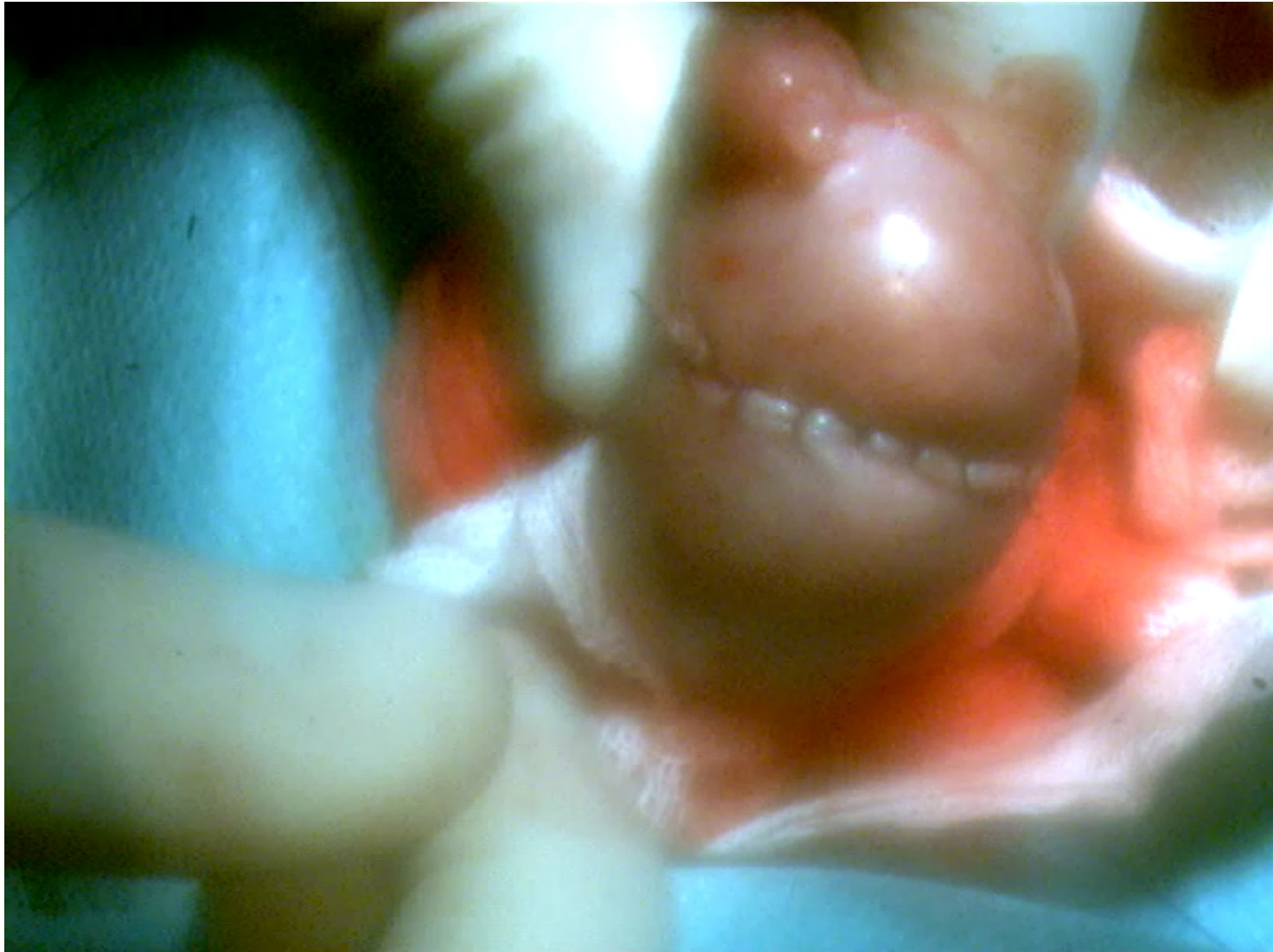
## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)



## Microsurgical Testicular Sperm Extraction (micro-TESE)

### Πλεονεκτήματα

- Υψηλότερα ποσοστά επιτυχίας σε ΝΟΑ
- Μεγαλύτερη ποσότητα σπερματοζωαρίων
- Σχετικά υψηλότερη πιθανότητα για υλικό προς κρυοσυντήρηση
- Χαμηλό ρίσκο επιπλοκών

### Μειονεκτήματα

- Αυξημένο κόστος και χρονοβόρο.
- Απαιτείται κύκλος εκμάθησης της τεχνικής
- Μετεγχειρητικός πόνος

# Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

Τρεις οι βασικοί στόχοι:

- (i) απόκτηση επαρκούς αριθμού σπερματοζωαρίων (για άμεση χρήση και κρυοσυντήρηση)
- (ii) ανάκτηση όσο το δυνατόν ποιοτικότερων σπερματοζωαρίων
- (iii) ελαχιστοποίηση της βλάβης

# Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

## Παρατηρήσεις

### micro-TESE

- Ποσοστά ανάκτησης από 35-77%.
- Έχει καλύτερα ποσοστά επιτυχούς ανάκτησης από την TESE ή TESA, διότι **τα σπερματικά σωληνάρια που περιέχουν προχωρημένες εστίες σπερματογένεσης μπορούν να αναγνωριστούν καλύτερα.**
- **Ελαχιστοποιεί τη βλάβη στον ιστό των όρχεων.**
- **Πιο αποτελεσματική από την TESE για την ανάκτηση σπερματοζωαρίων από άνδρες με όγκο όρχεων <10 ml**



Κιρσοκήλη

Μη αποφρακτική αζωοσπερμία

**Αποφρακτική αζωοσπερμία**



# Αποφρακτική αζωοσπερμία

11-40% των περιπτώσεων αζωοσπερμίας

## Αίτια:

- Συγγενή (CBAVD)
- Επίκτητα (Vasectomy, λοιμώξεις, απόφραξη εκσπερματιστικού πόρου)

# Απόφραξη εκσπερματιστικού πόρου

## Κλασικά ευρήματα:

- Χαμηλός όγκος <1,5ml
- Όξινο pH
- Ολιγο-αζωοσπερμία
- Φυσιολογικό ορμονικό προφίλ

# Απόφραξη εκσπερματιστικού πόρου

## Απεικονιστικά ευρήματα:

- Διατεταμένες σπερματοδόχες κύστες
- Προστατικές κύστες ή απασβεστώσεις
- Διατεταμένοι σπερματικοί πόροι στον TRUS

# Απόφραξη εκσπερματιστικού πόρου

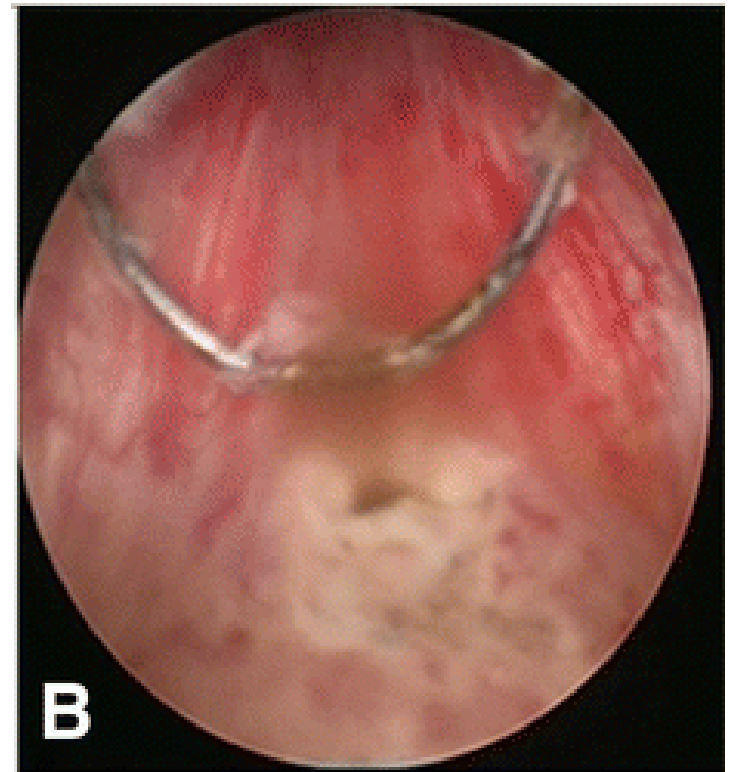
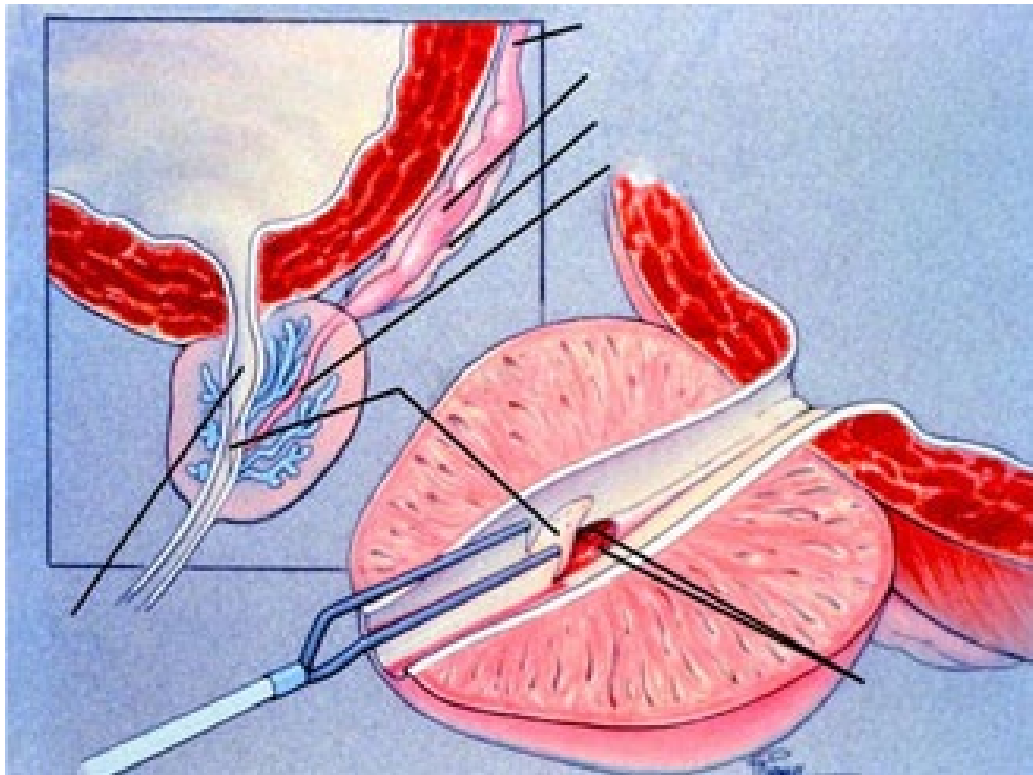
## Αντιμετώπιση:

2 γενικές μέθοδοι ανάκτησης σπερματοζωαρίων:

- 1) Χειρουργική επέμβαση (TURED)
- 2) Διαδερμική ανάκτηση

# Απόφραξη εκσπερματιστικού πόρου

**TURED** 30% επιτυχία



# Vasovasostomy - Vasoepididymostomy

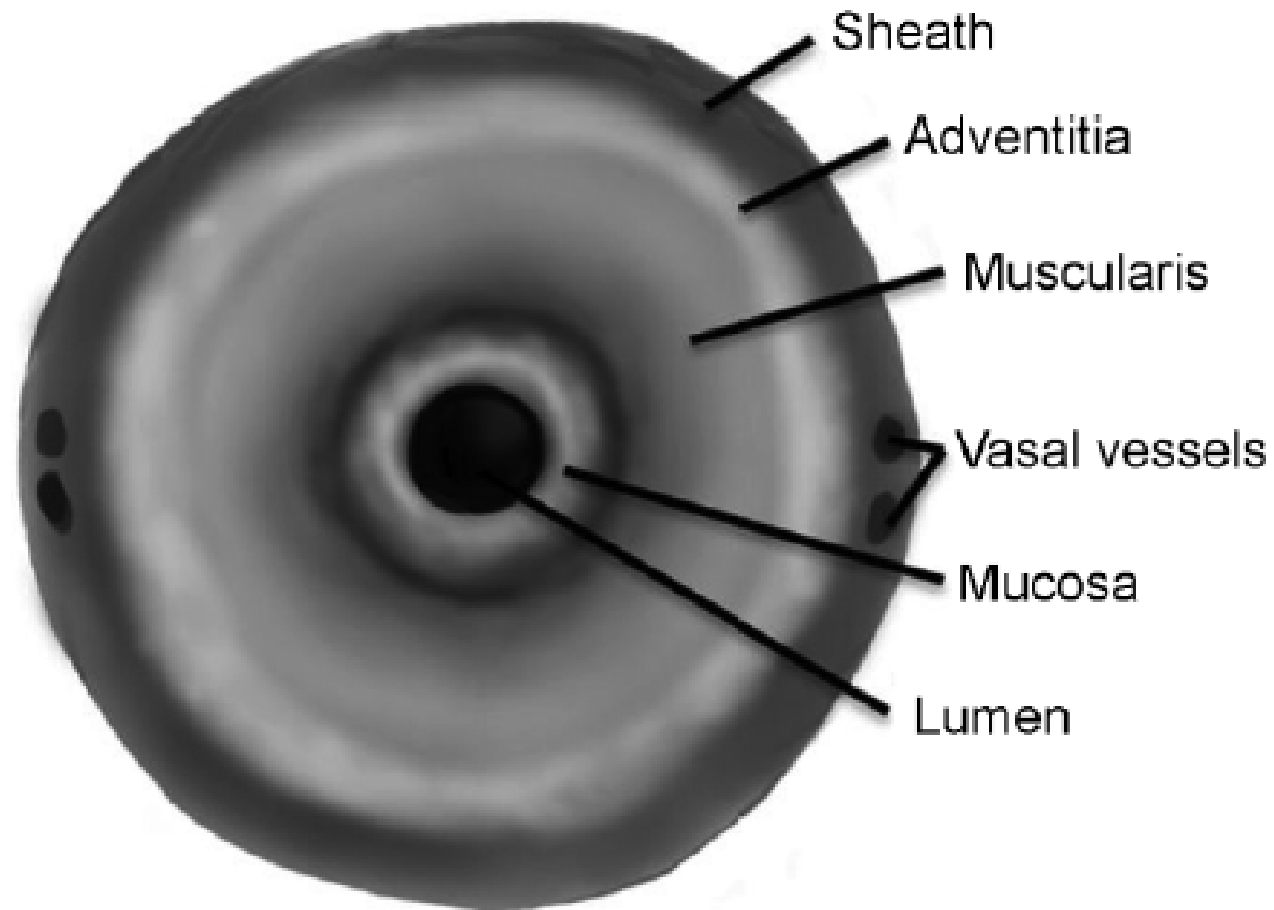
VV κυρίως μετά από Vasectomy

(Επιτυχία 85-98%, LBR 38-84%)

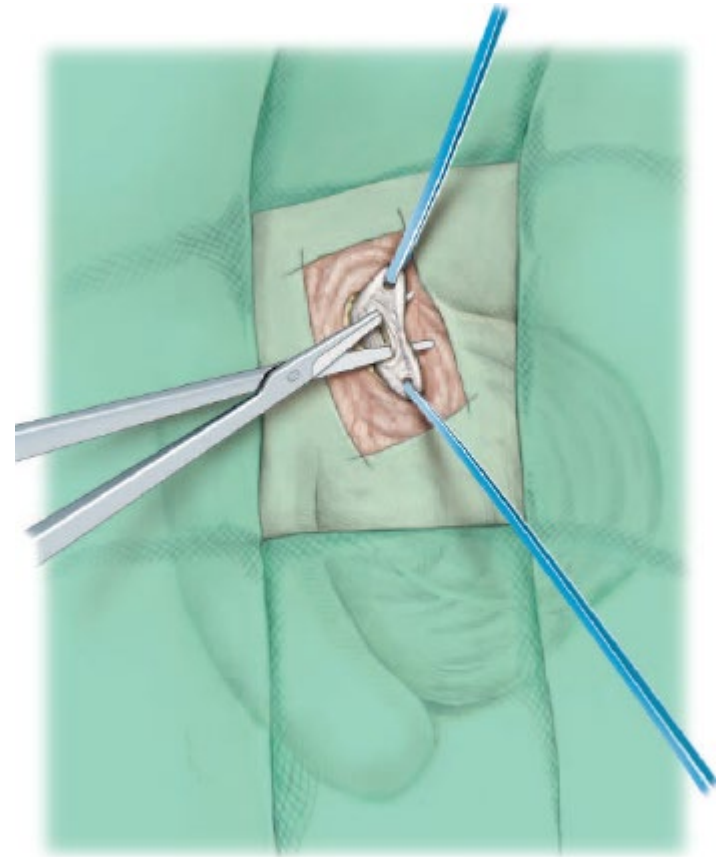
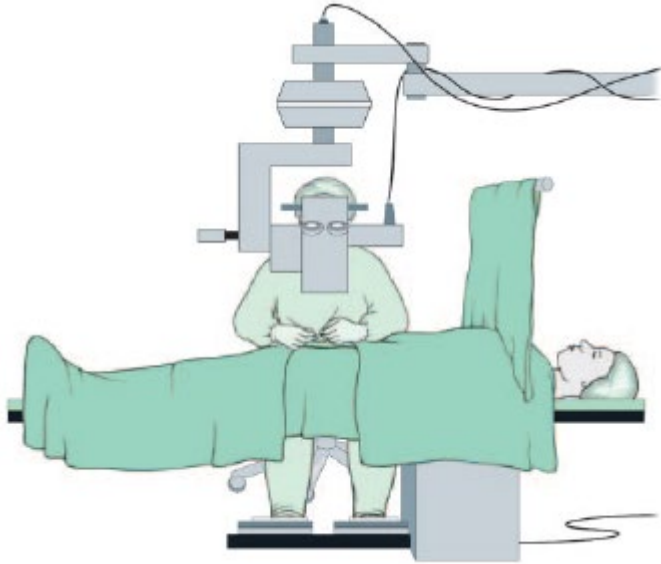
VE κυρίως σε απόφραξη επιδιδυμίδας ή μακροχρόνια απόφραξη

(Επιτυχία 70-90%, LBR 32-56%)

# Vasovasostomy

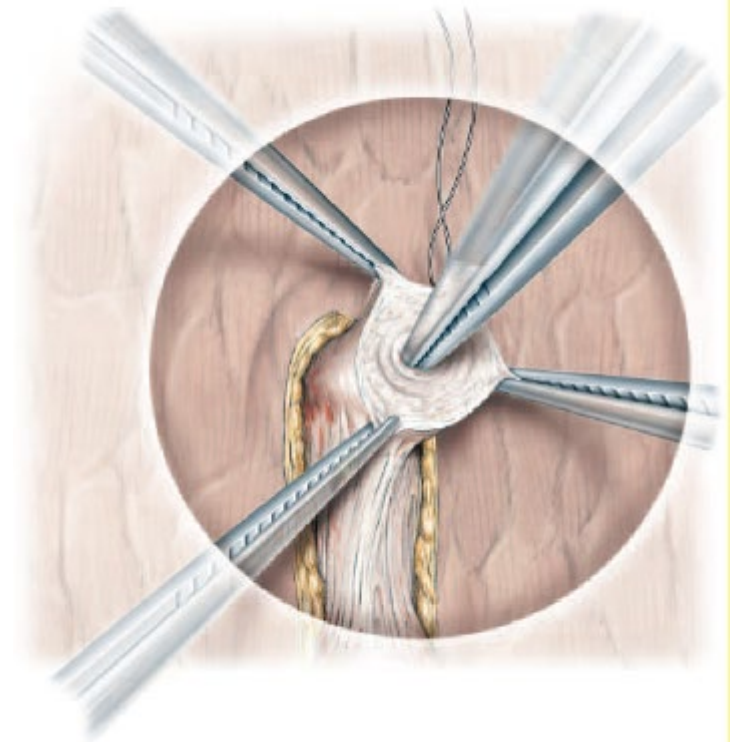
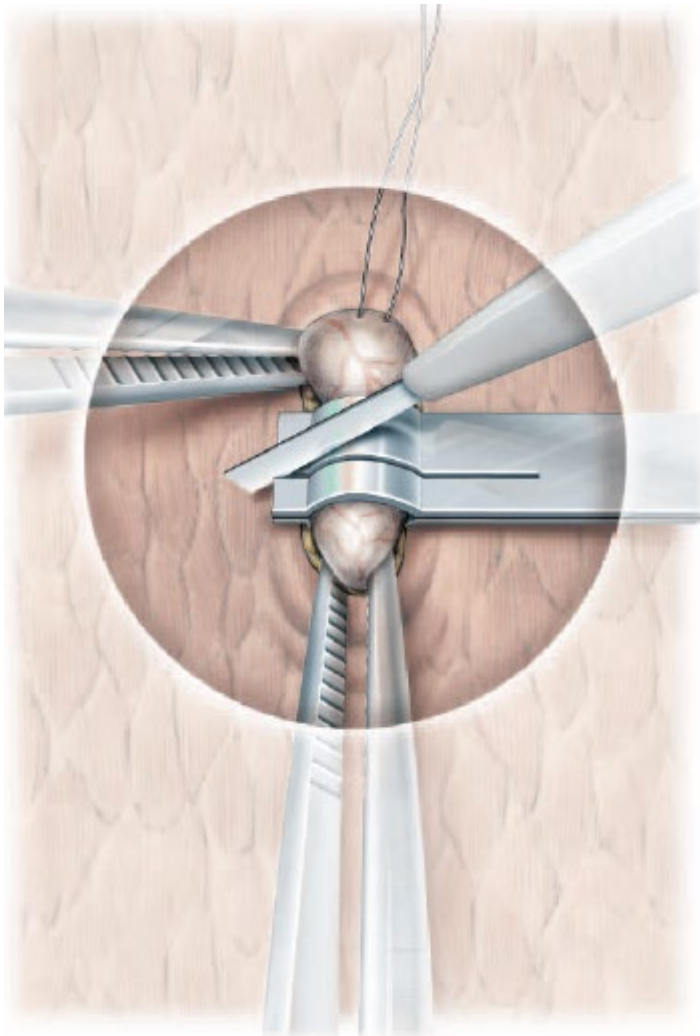


# Vasovasostomy

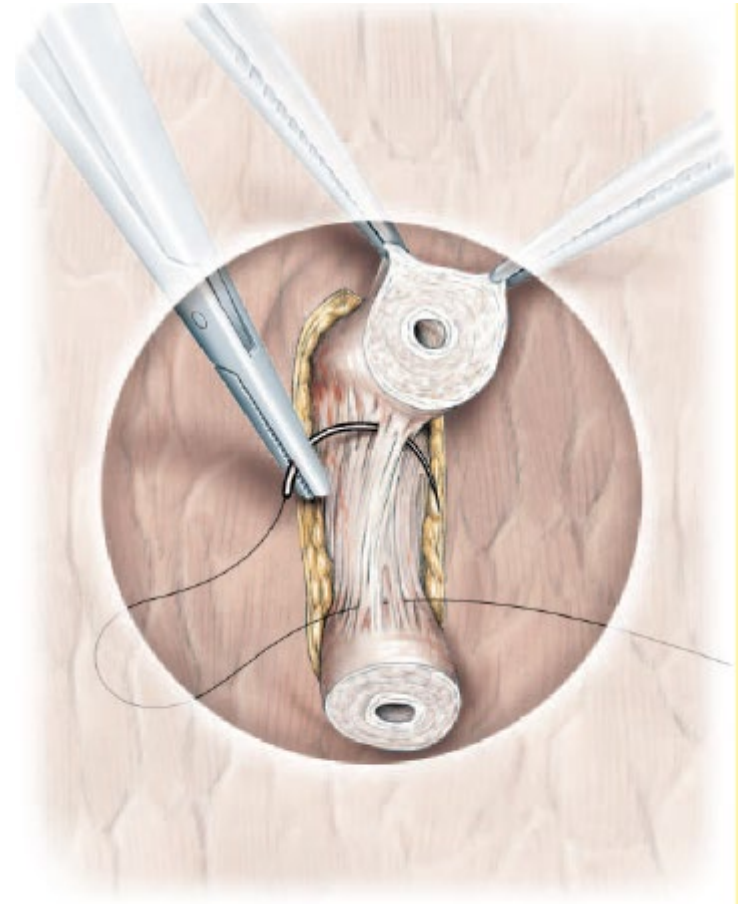
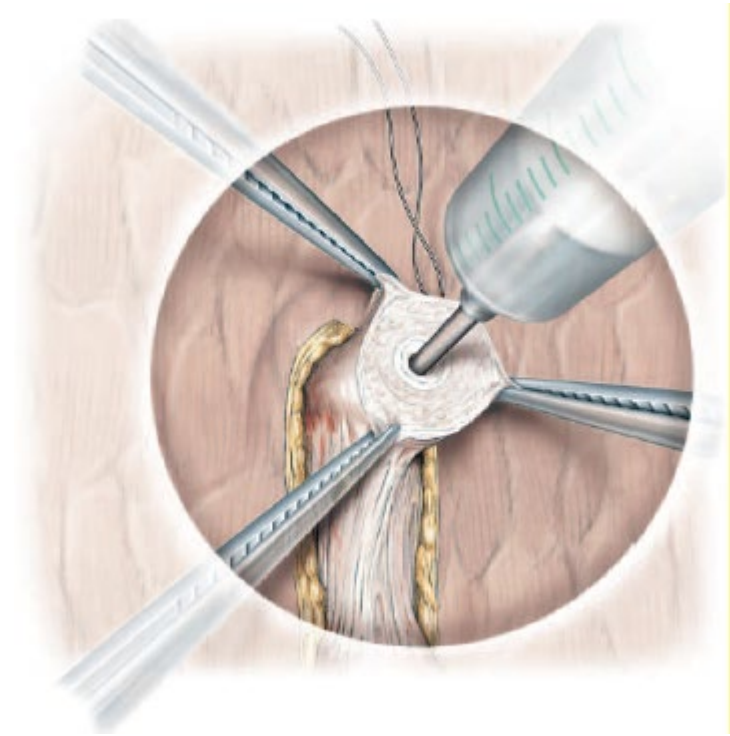




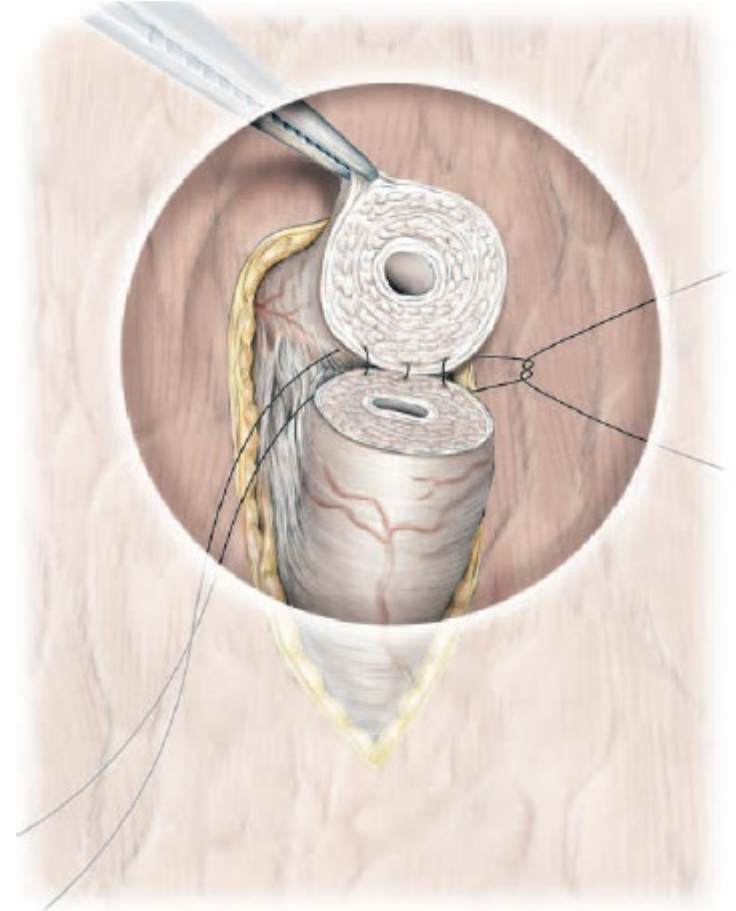
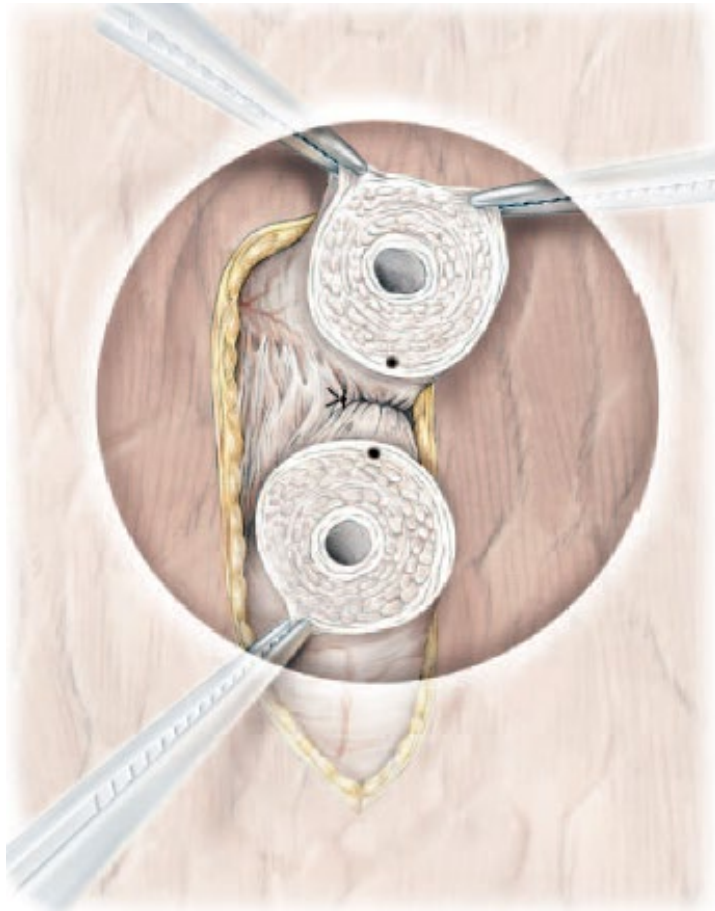
# Vasovasostomy



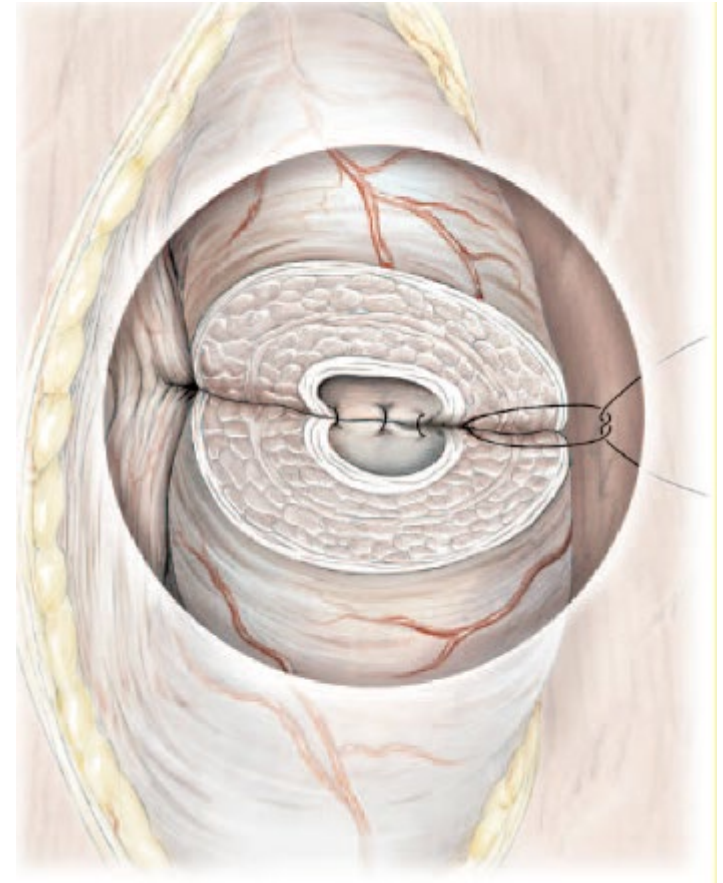
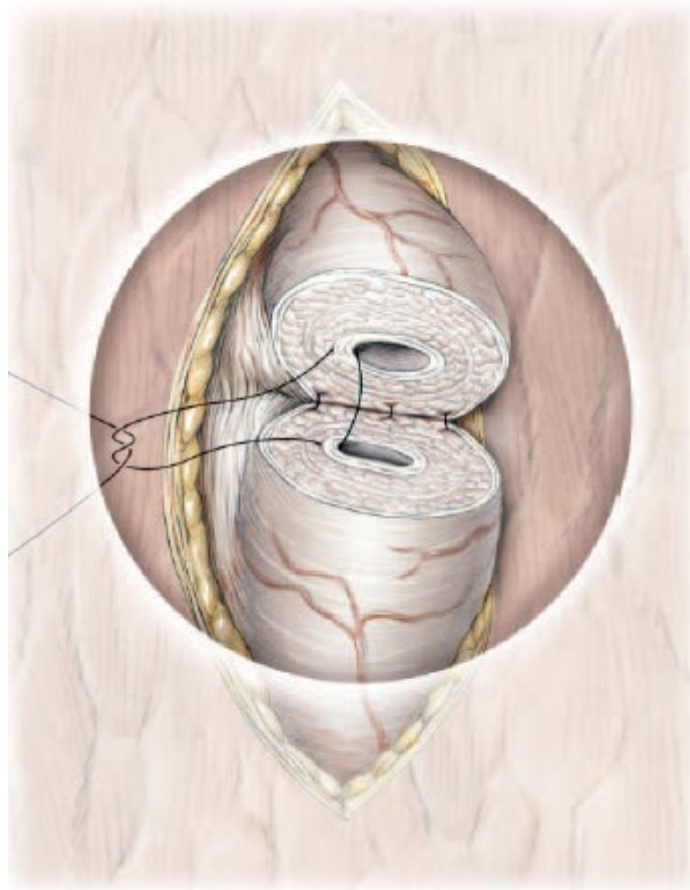
# Vasovasostomy



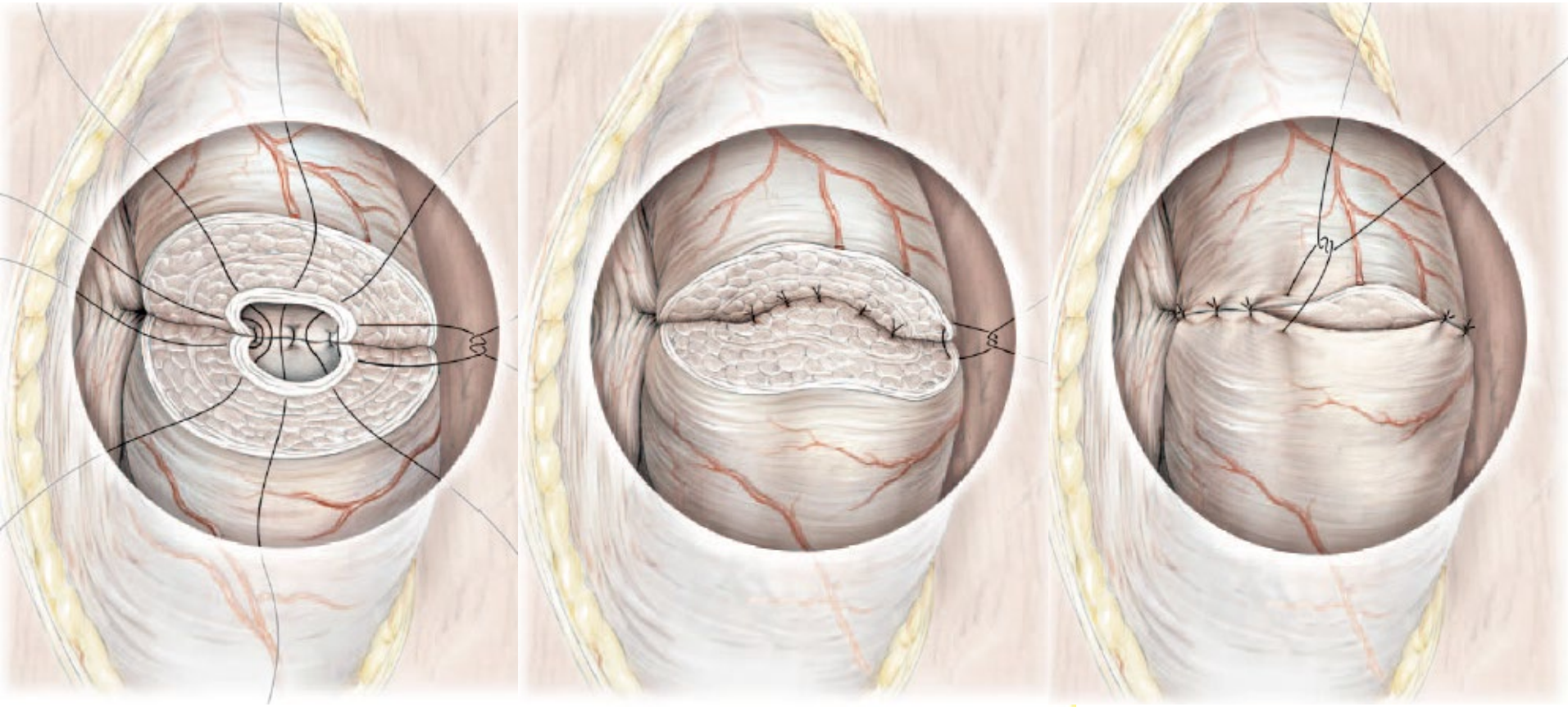
# Vasovasostomy



# Vasovasostomy



# Vasovasostomy



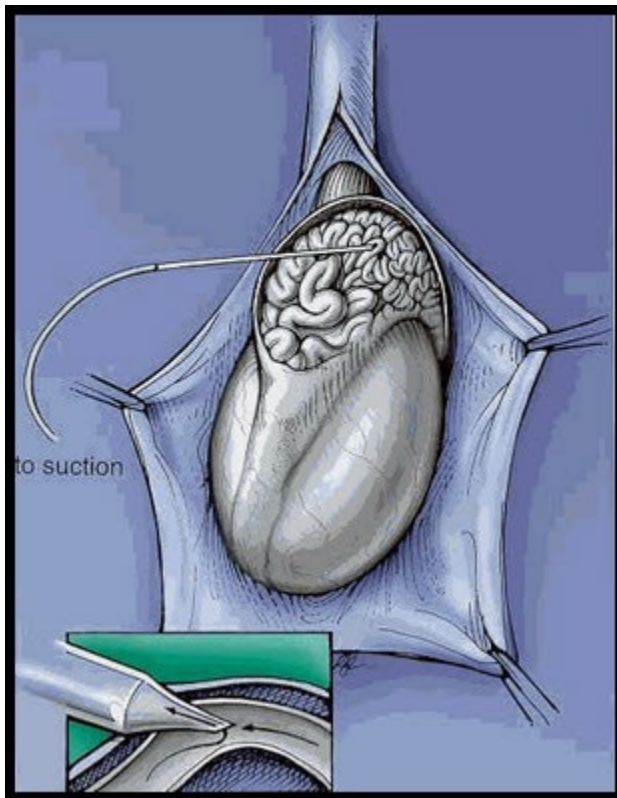
## Τεχνικές ανάκτησης σπερματοζωαρίων

- 1) Χειρουργική επέμβαση
- 2) Διαδερμική ανάκτηση

# Χειρουργική επέμβαση Συμβατικές μέθοδοι

Διαδερμικές μέθοδοι

## Open Epididymal Fine-Needle Aspiration



Αποκάλυψη επιδιδυμίδας και αναρρόφηση με βελόνη (26-G needle)

Αναρρόφηση από διάφορες περιοχές για αύξηση πιθανοτήτων



## Open Epididymal Fine-Needle Aspiration

### Πλεονεκτήματα

- Γρήγορη και χαμηλού κόστους
- Ελάχιστη νοσηρότητα και εύκολη επαναληψιμότητα
- Απαιτούνται ελάχιστα εργαλεία και αναλώσιμα

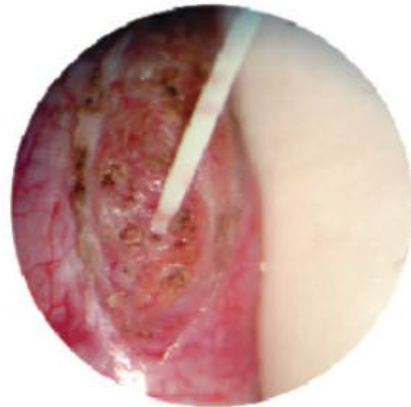
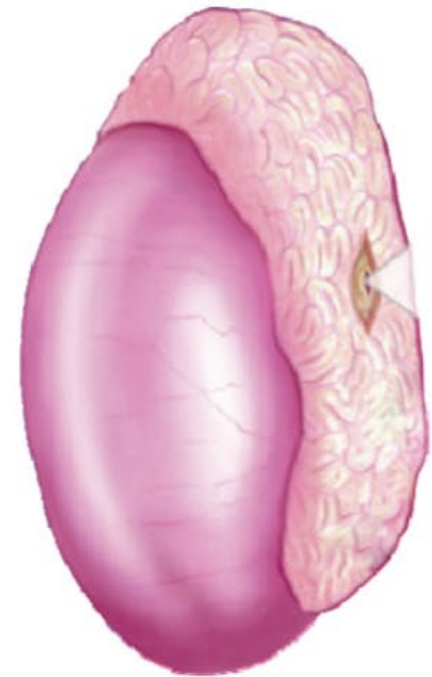
### Μειονεκτήματα

- Ανακτά μικρό αριθμό σπερματοζωαρίων
- Συνήθως δεν αρκεί το δείγμα για κρυοσυντήρηση
- Μπορεί να προκαλέσει ίνωση και απόφραξη στο σημείο αναρρόφησης.

# Χειρουργική επέμβαση Μικροχειρουργικές μέθοδοι

Διαδερμικές μέθοδοι

## Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration (MESA)



- Αποκάλυψη επιδιδυμίδας
- Διάνοιξη και αναρρόφηση ενός διατεταμμένου σωληναρίου
- Έγχυση σε δοχείο με ζεστό μέσο έκπλυσης σπερματοζωαρίων

## Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration (MESA)

### Πλεονεκτήματα

- Ανακτά ικανό αριθμό σπερματοζωαρίων
- Συνήθως δείγμα κατάλληλο και για κρυοσυντήρηση
- Χαμηλό ποσοστό επιπλοκών

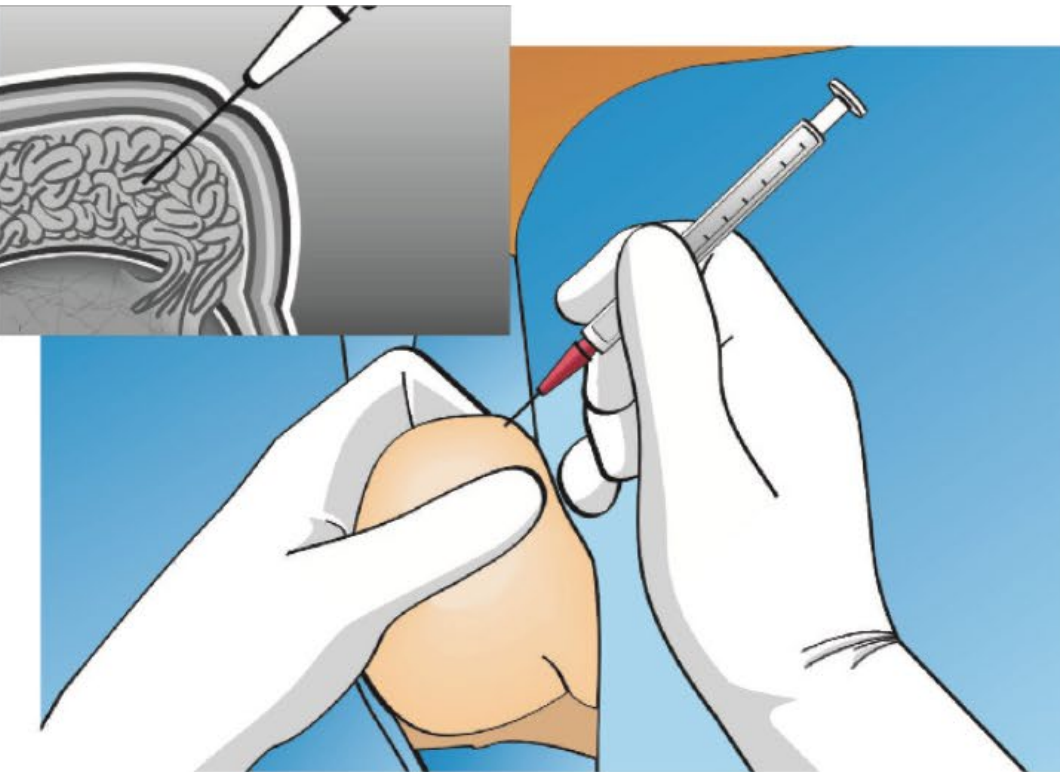
### Μειονεκτήματα

- Αυξημένο κόστος και χρονοβόρος διαδικασία
- Απαιτείται εμπειρία σε μικροχειρουργικές δεξιότητες

Χειρουργική επέμβαση  
Συμβατικές & μικροχειρουργικές μέθοδοι

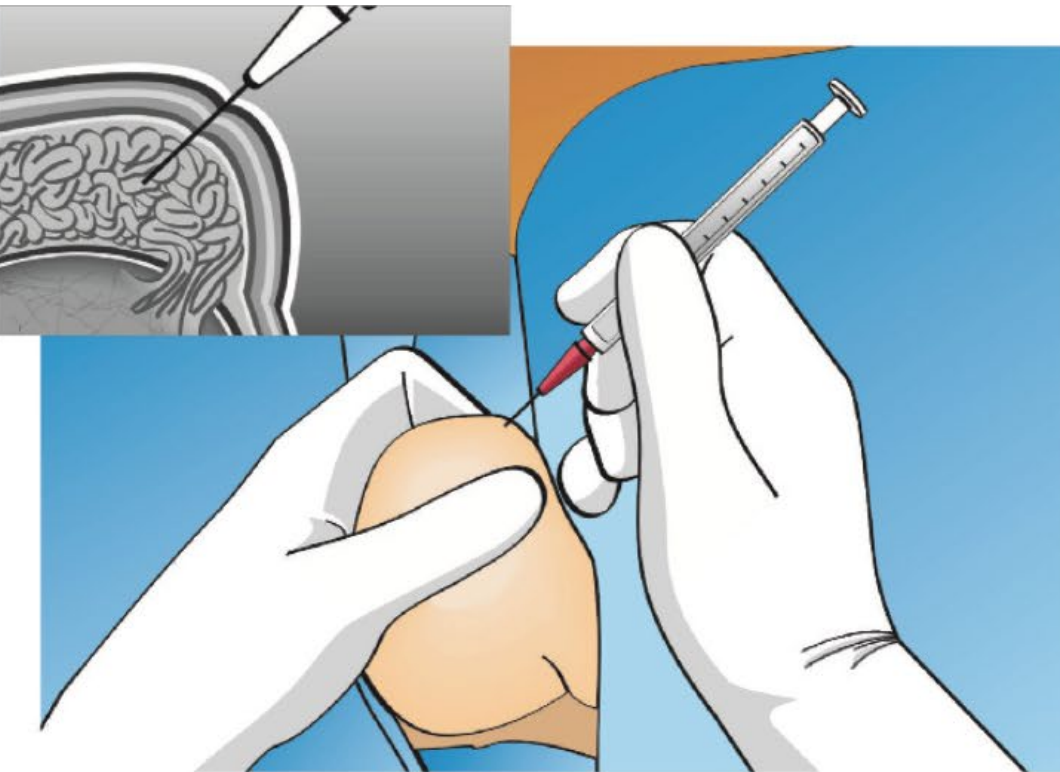
**Διαδερμικές μέθοδοι**

## Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration (PESA)



- Διαδερμική διάτρηση επιδιδυμίδας με βελόνη (26 gauge) σε σύριγγα ινσουλίνης με υγρό έκπλυσης σπερματοζωαρίων

## Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration (PESA)



- Προτιμάμε την κεφαλή και το σώμα της επιδιδυμίδας
- Η ουρά συνήθως περιέχει κακής ποιότητας σπερματοζωάρια

## Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration (PESA).

### Πλεονεκτήματα

- Γρήγορη και χαμηλού κόστους
- Ελάχιστη νοσηρότητα και εύκολη επαναληψιμότητα
- Απαιτούνται ελάχιστα εργαλεία και αναλώσιμα

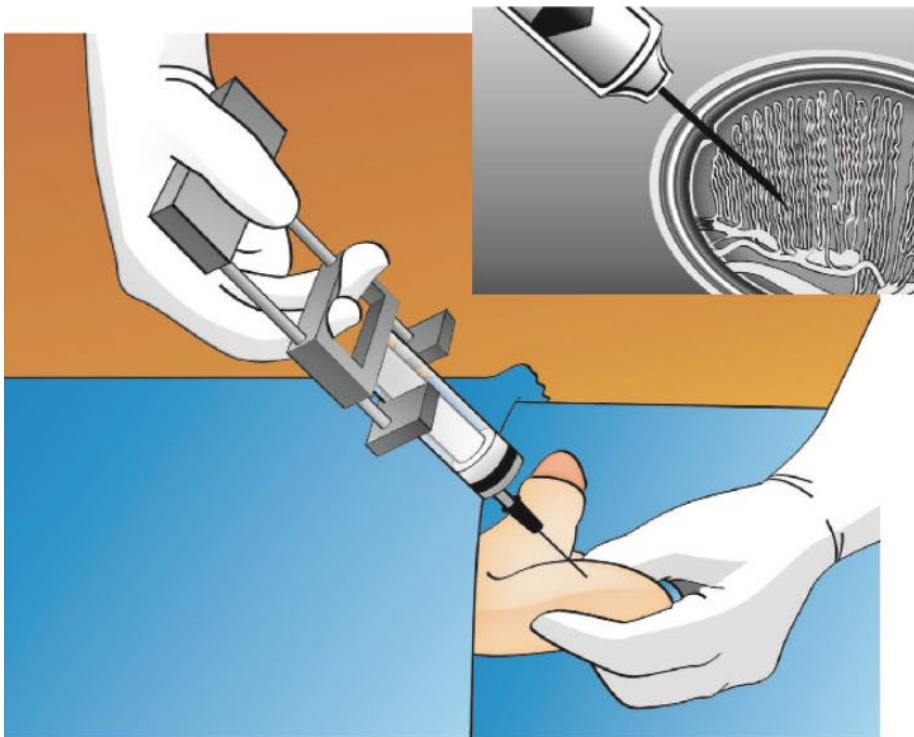
### Μειονεκτήματα

- Ανακτά μικρό αριθμό σπερματοζωαρίων
- Συνήθως δεν αρκεί το δείγμα για κρυοσυντήρηση
- Μεγάλες πιθανότητες πρόκλησης ίνωσης, αιματώματος και απόφραξης στο σημείο αναρρόφησης

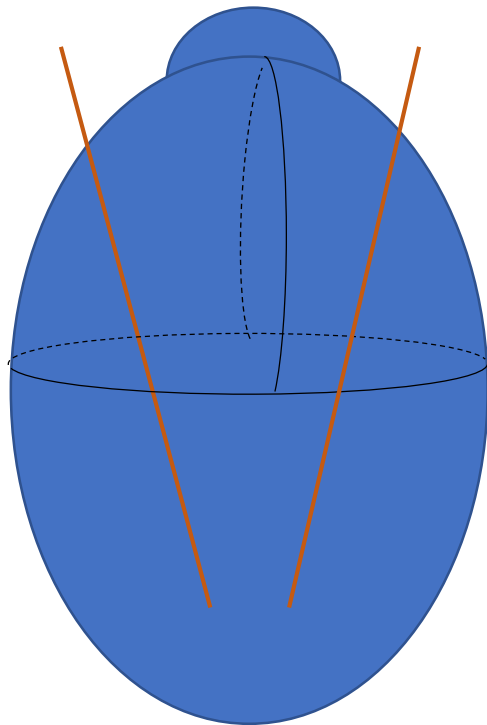


## Testicular Sperm Aspiration (TESA)

- Διάτρηση παρεγχύματος όρχη.

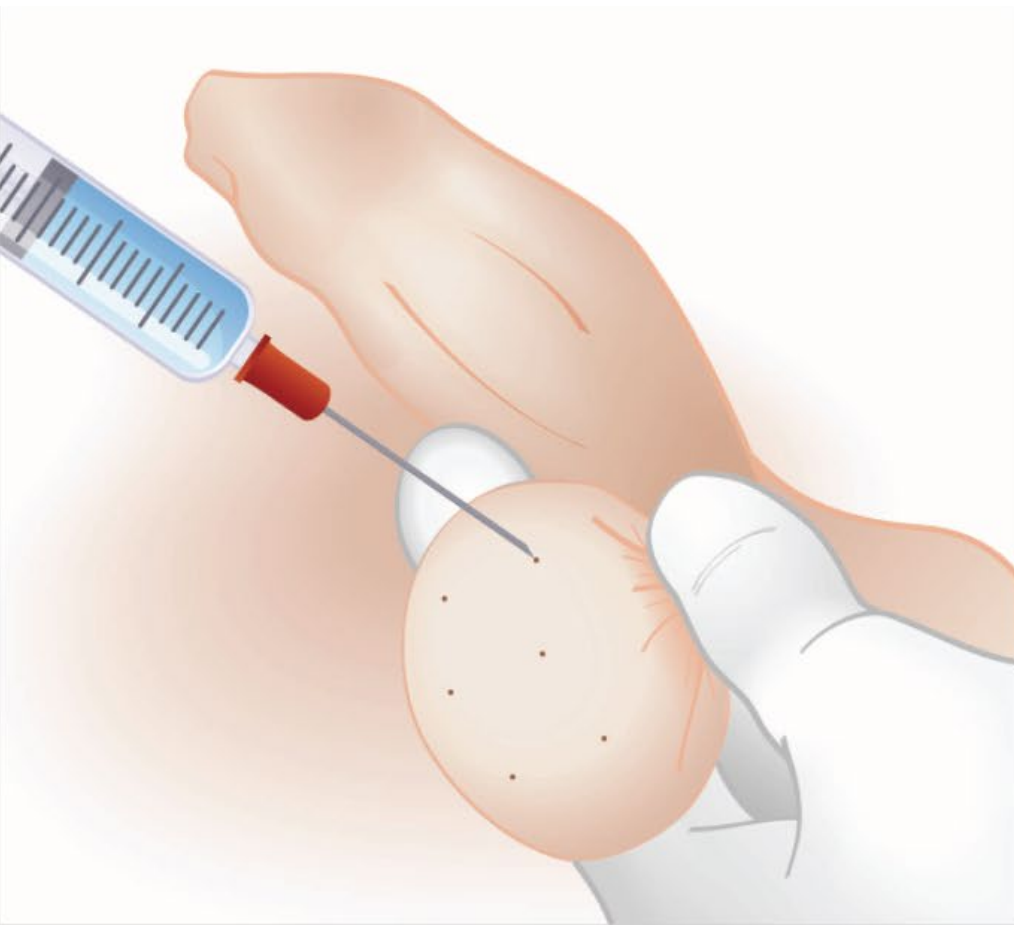


## Testicular Sperm Aspiration (TESA)



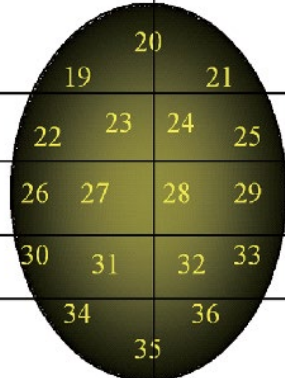
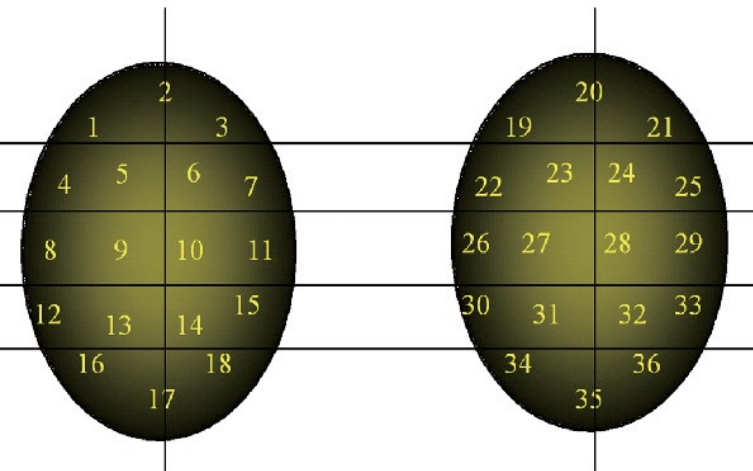
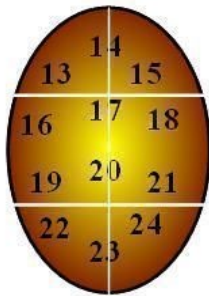
- Σημείο διάτρησης: **πρόσθιο-έξω / προσθιο-έσω** επιφάνεια του **άνω πόλου** με λοξή γωνία προς τον μέσο και κάτω πόλο

## Testicular FNA (TEFNA)



- Αναρρόφηση με βελόνη 23G 1'' υπό τοπική αναισθησία.

## Testicular FNA (TEFNA) - χαρτογράφηση



- Για μεγαλύτερους όρχεις μέχρι και 18 διαφορετικά σημεία αναρρόφησης ανά όρχη
- Το υλικό μπαίνει σε αριθμημένα δοχεία.

## Testicular Sperm Aspiration (TESA) Testicular FNA (TEFNA)

### Πλεονεκτήματα

- Γρήγορη και χαμηλού κόστους
- Ελάχιστη νοσηρότητα και εύκολη επαναληψιμότητα
- Απαιτούνται ελάχιστα εργαλεία και αναλώσιμα
- Δεν απαιτούνται μικροχειρουργικές δεξιότητες

### Μειονεκτήματα

- Ανακτά μικρό αριθμό σπερματοζωαρίων σε NOA
- Συνήθως δεν αρκεί το δείγμα για κρυοσυντήρηση
- Πιθανότητα πρόκλησης αιματώματος και ατροφίας όρχη
- TESA: χαμηλό ποσοστό επιτυχίας σε NOA
- TEFNA: δεν έχει δοκιμαστεί σε μεγάλες σειρές

## Ultrasonographically guided puncture of the rete testis



## Ultrasonographically guided puncture of the rete testis.



## Ultrasonographically guided puncture of the rete testis

### Πλεονεκτήματα

- Γρήγορη, ελάχιστα επεμβατική και χαμηλού κόστους
- Δεν μειώνει το ορχικό παρέγχυμα
- Ελάχιστη νοσηρότητα και εύκολη επαναληψιμότητα
- Απαιτούνται ελάχιστα εργαλεία και αναλώσιμα
- Δεν απαιτούνται μικροχειρουργικές δεξιότητες

### Μειονεκτήματα

- Ανακτά μικρό αριθμό σπερματοζωαρίων σε NOA
- Συνήθως δεν αρκεί το δείγμα για κρυοσυντήρηση
- Δεν έχει δοκιμαστεί σε μεγάλες σειρές



## Συνολικές επιπλοκές

- Αιμάτωμα
- Πόνο
- Διόγκωση
- Επιμόλυνση
- Υδροκήλη, Σπερματοκήλη

## Συνολικές επιπλοκές

Οι περισσότερες επιπλοκές διορθώνονται **μόνες τους** χωρίς να επηρεαστεί η ορχική λειτουργία.

Η αφαίρεση μεγάλου τμήματος όρχη μπορεί να οδηγήσει σε **παροδική ή και μόνιμη μείωση** των περιφερικών επιπέδων τεστοστερόνης

## Προγνωστικοί παράγοντες

Κλινικές παράμετροι

Ορμόνες (FSH, T, LH, Inhibin B, ...)

Όγκος όρχεων

Χρήση high-resolution color Doppler ultrasound

Ηλικία

Ιστολογική

Πλήρης έλλειψη AZFa ή AZFb στο χρωμόσωμα Y

## Προγνωστικοί παράγοντες

Κλινικές παράμετροι

Ορμόνες (FSH, T, LH, Inhibin B, ...)

Όγκος όρχεων

Χρήση high-resolution color Doppler ultrasound

Ηλικία

Ιστολογική

Πλήρης έλλειψη AZFa ή AZFb στο χρωμόσωμα Y

## Ανάκτηση σπέρματος: Διαθέσιμες τεχνικές

- Open Epididymal Fine-Needle Aspiration
- TESE
- Single Seminiferous Tubule Biopsy
- MESA
- micro-TESE
- PESA
- TESA and TEFNA
- Ultrasonographically guided puncture of the rete testis.

## Παρατηρήσεις

- Η επιλογή της τεχνικής βασίζεται στον τύπο αζωοσπερμίας στην εμπειρία του χειρουργού και τις δυνατότητες της Κλινικής.
- Στην ΟΑ **δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία** για να προτείνουμε μία χειρουργική τεχνική έναντι μιας άλλης

## Παρατηρήσεις

- Οι βιολογικοί παράγοντες του ασθενή, η επιμονή και εμπειρία του χειρουργού, και η αφοσίωση του εμβρυολόγου αναπαραγωγής καθορίζουν το αποτέλεσμα στην NOA
- Στην NOA δεν υπάρχει προγνωστικός δείκτης επιτυχούς ανάκτησης. Ο μόνος καλός προγνωστικός δείκτης είναι το θετικό για σπερματοζωάρια ιστολογικό παρασκεύασμα όρχη από προηγούμενη βιοψία αρνητική για ανάκτηση σπερματοζωαρίων

## Παρατηρήσεις

- Τα ποσοστά επιτυχούς ανάκτησης σπερματοζωαρίων από τον όρχη σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις που αιτιολογούν ή συνυπάρχουν με την αζωοσπερμία όπως **κρυφορχία, κισσοκήλη, ορχίτιδα, γενετικές ανωμαλίες, ραδιο/χημειοθεραπεία και ιδιοπαθής αζωοσπερμία**, είναι συγκρίσιμα.

Chan, P.T., et al., Cancer, 2001. 92(6). - Raman, J.D. et al., J Urol, 2003. 170(4 Pt 1)

Schiff, J.D., et al., J Clin End Metab, 2005. 90(11). - Schlegel, P.N., et al., Hum Reprod, 1999. 14(1)