

Διαβάζοντας

ΤΟ ΣΠΕΡΜΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ

Φώτης Δημητριάδης

Χειρουργός Ουρολόγος, MD, PhD, FEBU

Σταμάτης Παπαχαρίτου

**Βιολόγος Αναπαραγωγής, MSc, PhD
Κλινικός Εμβρυολόγος**

Αρχίζουμε να διαβάζουμε το σπερμοδιάγραμμα πριν
κοιτάξουμε στο τυπωμένο αποτέλεσμα που έχουμε
μπροστά μας...

Ο ρόλος του ιστορικού

ΙΣΤΟΡΙΚΟ στο εργαστήριο

- Σεξουαλική δραστηριότητα και ωρίμανση
- προηγηθείσες παθήσεις του γεννητικού συστήματος (λοιμώξεις, τραύματα, συστροφή όρχεως)
- χειρουργικές επεμβάσεις, (κρυπορχία –βουβωνοκήλη) διουρηθρικές επεμβάσεις
- χρόνιες συστηματικές παθήσεις (ΧΝΑ, νευρολογικές , Σ.Δ.)
- λήψη φαρμάκων
- Χρόνος ανάμεσα σε αγωγή και εξέταση
- έκθεση σε ακτινοβολία, τοξικές ή χημικές ουσίες, υψηλές θερμοκρασίες
- ιστορικό λοιμώξεων της συζύγου
- Συσχέτιση με δερματολογική αγωγή
- Σεξουαλικό ιστορικό

ΙΣΤΟΡΙΚΟ στο εργαστήριο

- Τόπος...
 - Τρόπος...
 - Χρόνος (ώρα – χρονική απόσταση),
... παραγωγής δείγματος
-
- Η λήψη στο εργαστήριο
 - Από το κυπελάκι...έως το ISO

στο εργαστήριο



ΙΣΤΟΡΙΚΟ στο εργαστήριο

- Τόπος...
 - Τρόπος...
 - Χρόνος (ώρα – χρονική απόσταση),
... παραγωγής δείγματος
-
- Η λήψη στο εργαστήριο
 - Από το κυπελάκι...έως το ISO



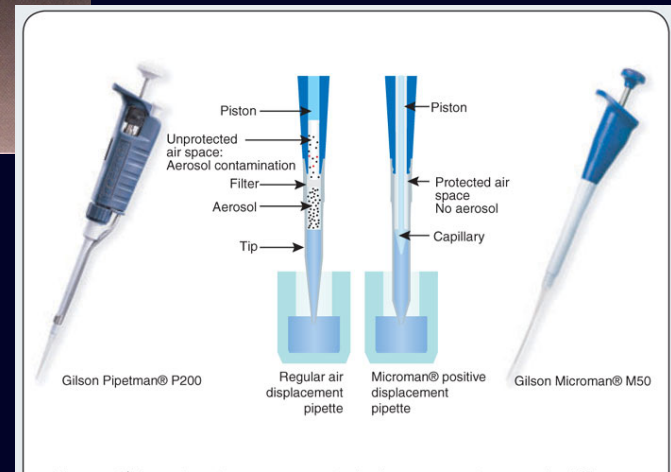
ΙΣΤΟΡΙΚΟ στο εργαστήριο

- Τόπος...
- Τρόπος...
- Χρόνος (ώρα – χρονική απόσταση)

... παραγωγής δείγματος

- Η λήψη στο εργαστήριο (τα απαιτούμενα)
- Από το κυπελάκι...έως το ISO

Η συντήρηση και η διαχείριση του δείγματος



Πιπέτα θετικής μετα

Εξετάσεις σπέρματος

Βασικές εξετάσεις

Αν/ση σπέρματος (Σπερμοδιάγραμμα)

Έλεγχος αντισπερματικών αντισωμάτων

Προαιρετικές εξετάσεις

Καλλιέργεια

Βιοχημικές εξετάσεις

Έλεγχος βιωσιμότητας

Ειδικοί δείκτες

Διερευνητικές εξετάσεις

Ελεύθερες ρίζες

Έλεγχος ακροσώματος

Μορφολογία με C.A.S.A.

Κατακερματισμός DNA

F.I.S.H.

Σπερμοδιάγραμμα

Μακροσκοπική εξέταση

Όγκος

Ρευστοποίηση - Γλοιότητα

pH

χρώμα

Μικροσκοπική εξέταση

Αριθμός—Συγκέντρωση σπερμίων

Κινητικότητα

Μορφολογία

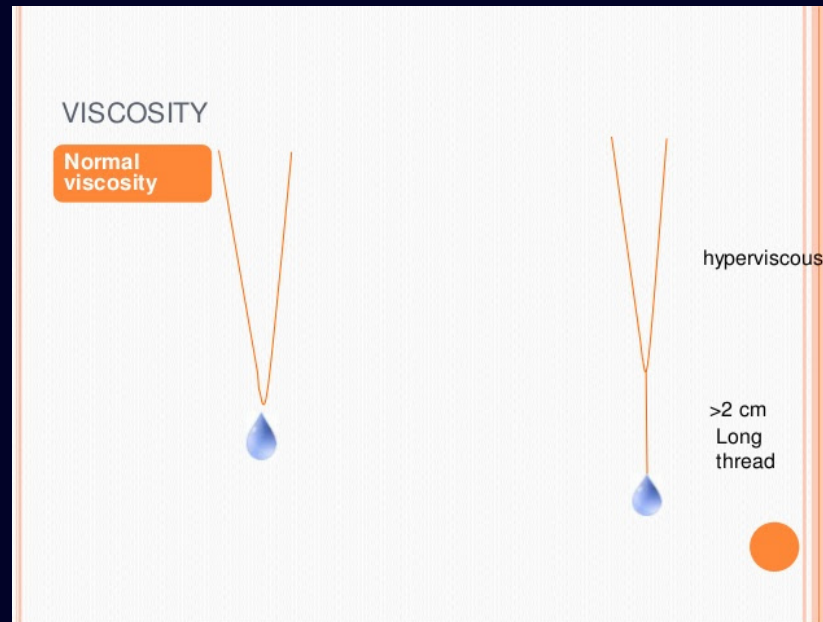
Στρογγυλά κύτταρα

Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά

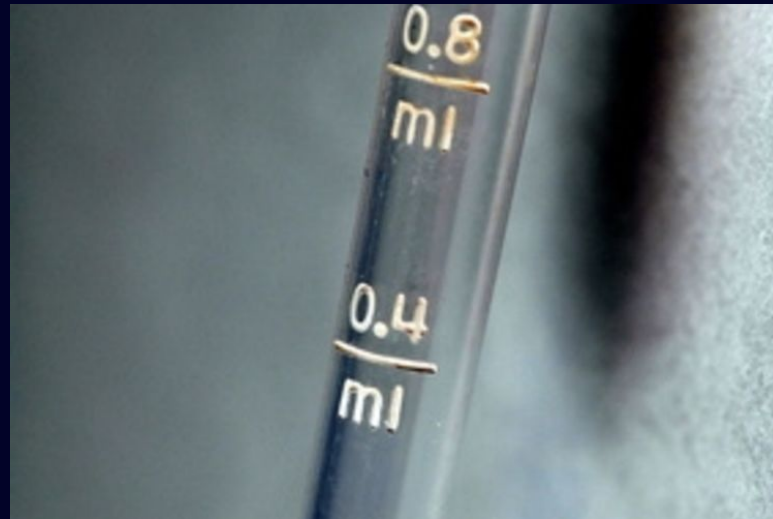
- Πως καταγράφονται
Φ ή ΜΦ
- Πως εκτιμώνται



Ιξώδες σπέρματος



Όγκος σπέρματος



Χρώμα - Οσμή – Υγροποίηση σπέρματος



pH σπέρματος



Όταν τα μακροσκοπικά χαρακτηριστικά
δεν είναι φυσιολογικά

Όγκος 0.7 ml

pH 8

Ρευστοποίηση Φ

Ημέρες αποχής 2

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων 30 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων 21 εκατομμύρια

Κινητικότητα 48 %

Μορφολογία 4 %

Λευκοκύτταρα 1 εκατομμύριο/ ml

Όγκος 12 ml

pH 8.2

Ρευστοποίηση Φ

Ημέρες αποχής 2

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων 30 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων 360 εκατομμύρια

Κινητικότητα 48 %

Μορφολογία 4 % φυσιολογικά

Όγκος

Μικρός όγκος σπέρματος - οργανικά αίτια

– Μονόπλευρή/ετερόπλευρη απόφραξη εσπερματιστικών πόρων

– Υποσιτισμός

– Απουσία σπερματοδόχων κύστεων

– Υπογοναδισμός

– Μικρή σεξουαλική διέγερση

– Παλίνδρομη εκσπερμάτιση

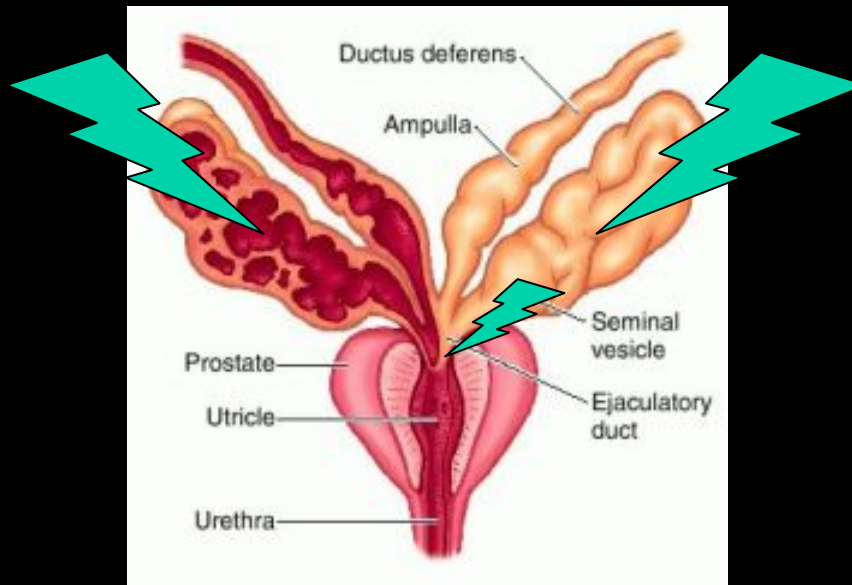
Όγκος

Μικρός όγκος σπέρματος - μη οργανικά αίτια

- Απώλεια μέρους του δείγματος
- Μικρός χρόνος αποχής
- Ατελής οργασμός

Όγκος

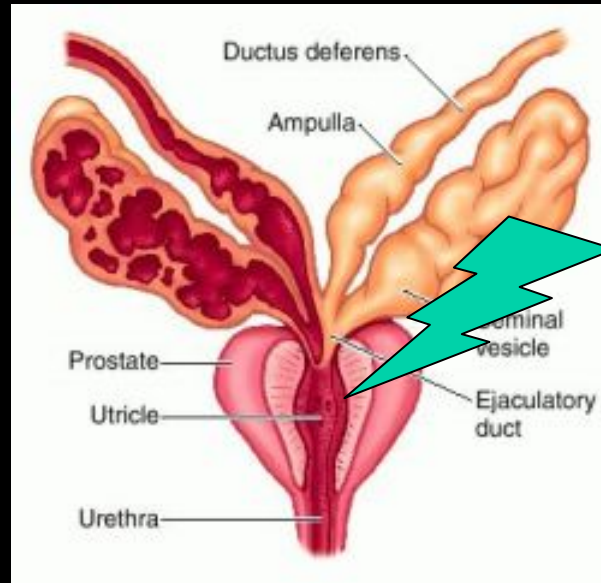
Υποσπερμία με $\text{pH} < 7.2$



– Μερική/ολική απόφραξη εκσπερματιστικών πόρων,
απουσία /υποπλασία σπερματοδόχων κύστεων

Όγκος

- Υποσπερμία με $\text{pH} > 7.8$



- Βλάβη επικουρικών γενετικών αδένων σε υπογοναδισμό, φλεγμονή, ναρκωτικά

Όγκος

- Ασπερμία

- Διαβητική νευροπάθεια
- Συμπαθητικολυτικά φάρμακα (α, β -blockers)
- Χειρουργεία που τραυματίζουν το συμπαθητικό
- Προστατεκτομή

Όγκος 2 ml

pH 6.5

Ημέρες αποχής 2

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων 12 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων 24 εκατομμύρια

Κινητικότητα 51 %

Μορφολογία 3 % φυσιολογικά

Ζωτικότητα > 75 % ζωντανά

Λευκοκύτταρα 1 εκατομμύριο/ ml

Όγκος 2 ml

pH 8.1

Ρευστοποίηση Φ

Ημέρες αποχής 3

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων 16 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων 32 εκατομμύρια

Κινητικότητα 50 %

Μορφολογία 4 % φυσιολογικά

Λευκοκύτταρα 3 εκατομμύριο/ ml

pH

- αλκαλικές εκκρίσεις σπερματοδόχων κύστεων (το μεγαλύτερο μέρος του δείγματος)
- υγρό από τους σπερματικούς πόρους
- όξινες προστατικές εκκρίσεις (pH 6.5) (το 2^ο μεγαλύτερο μέρος του δείγματος)

Όγκος 2 ml

pH 7

Ρευστοποίηση Φ

Ημέρες αποχής 3

Όψη καστανή

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων 16 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων 32 εκατομμύρια

Κινητικότητα 49 %

Μορφολογία 4 % φυσιολογικά

Λευκοκύτταρα 1 εκατομμύριο/ ml

Όψη και χρώμα

- Θολό ή διαυγές; Δεν έχει κλινική σημασία
- Το χρώμα δεν σχετίζεται με την γονιμοποιητική ικανότητα.
- Αποτελεί όμως σημείο αναγνώρισης παθολογιών:
 - Πολύ λευκό πιθανών να σχετίζεται με πυοσπερμία
 - Κιτρινωπό πιθανών να σχετίζεται με φλεγμονή
 - Κοκκινωπό πιθανών να σχετίζεται με αιμοσπερμία

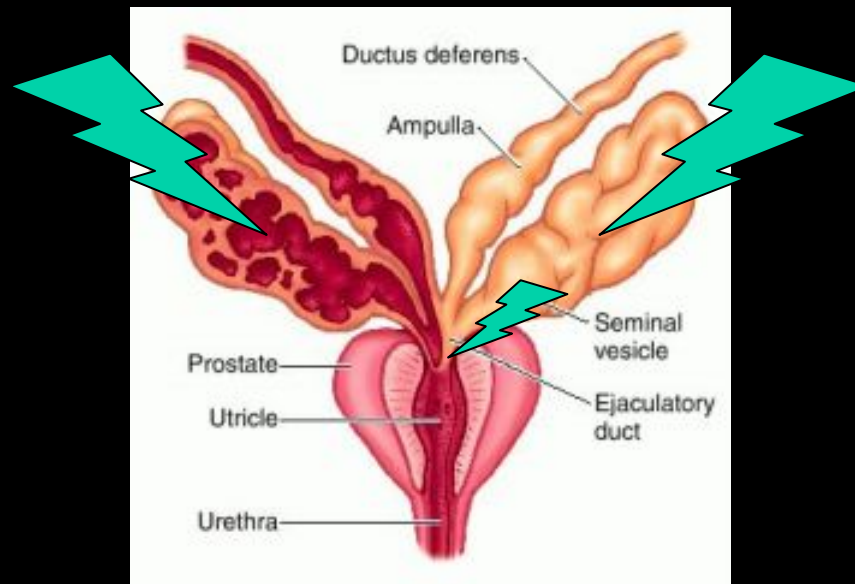
Όγκος	2 ml
pH	8.2
Ρευστοποίηση	MΦ > (60min)
Ημέρες αποχής	2

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων 30 εκατομμύρια/ ml
Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων 60 εκατομμύρια

Κινητικότητα	38 %
Μορφολογία	4 % φυσιολογικά

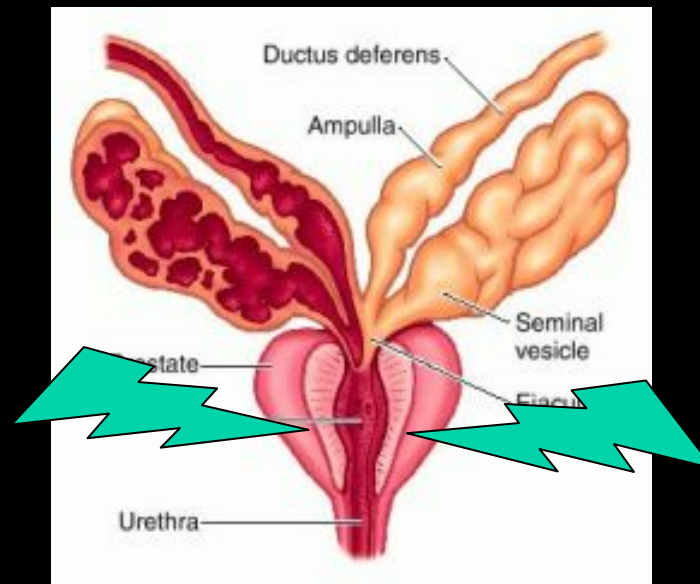
Πήξη - Ρευστοποίηση

- Αδυναμία πήξης = έλλειψη εκκρίσεων σπερματοδόχων κύστεων
 - εκκριτική δυσλειτουργία σπερματοδόχων κύστεων
 - απόφραξη σπερματοδόχων κύστεων
 - απουσία σπερματοδόχων κύστεων



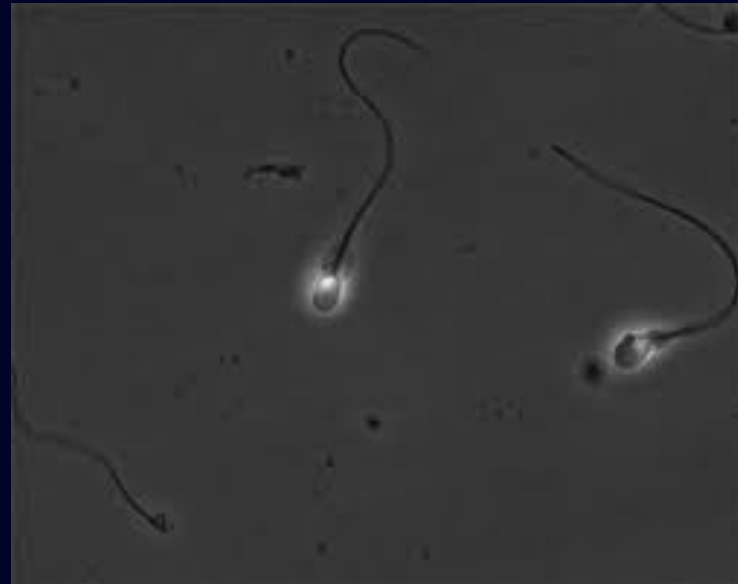
Πήξη - Ρευστοποίηση

- Καθυστερημένη ρευστοποίηση
 - Εκκριτική δυσλειτουργία προστάτη (πχ προστατίτιδα)



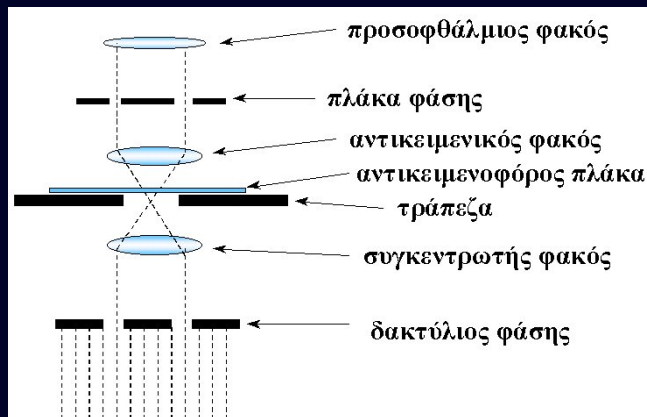
Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

- Πως καταγράφονται
...με αριθμούς
- Πως εκτιμώνται



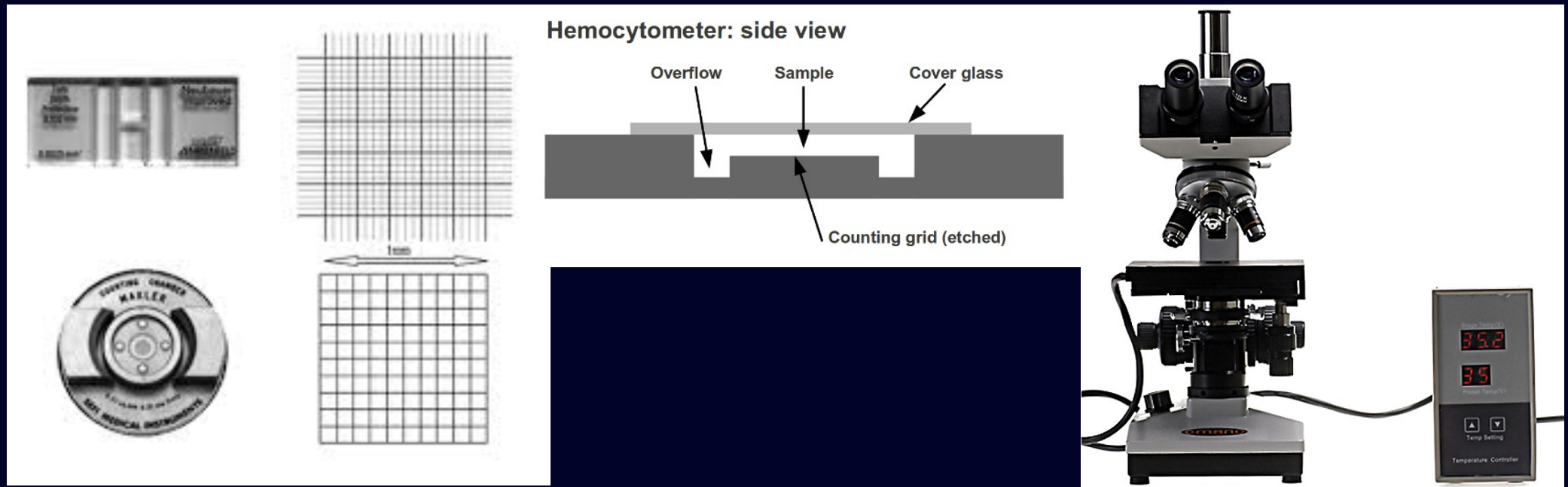
Το μικροσκόπιο

- Είδος
- Φακοί
- Συνθήκες λειτουργίας

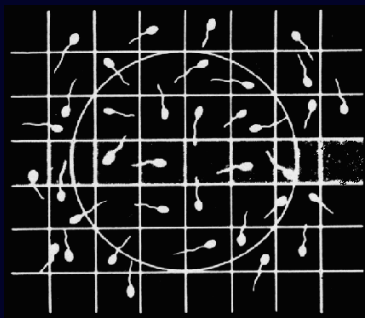
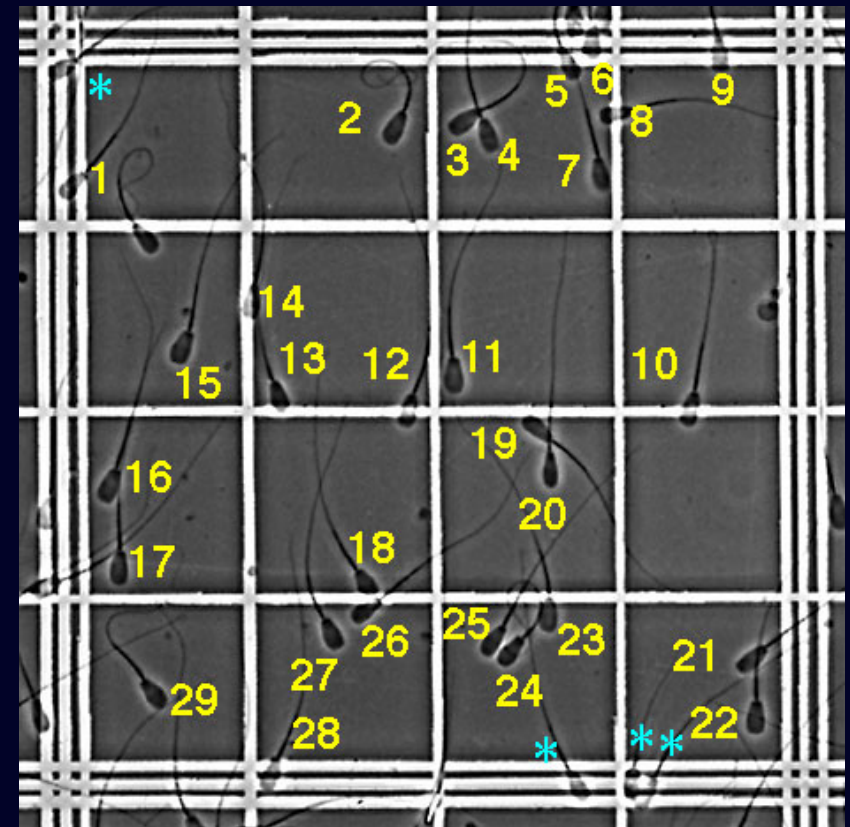
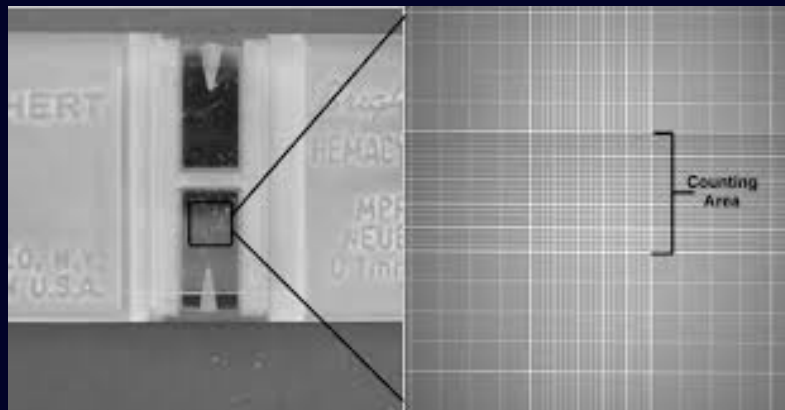


Επιφάνεια παρατήρησης και μέτρησης

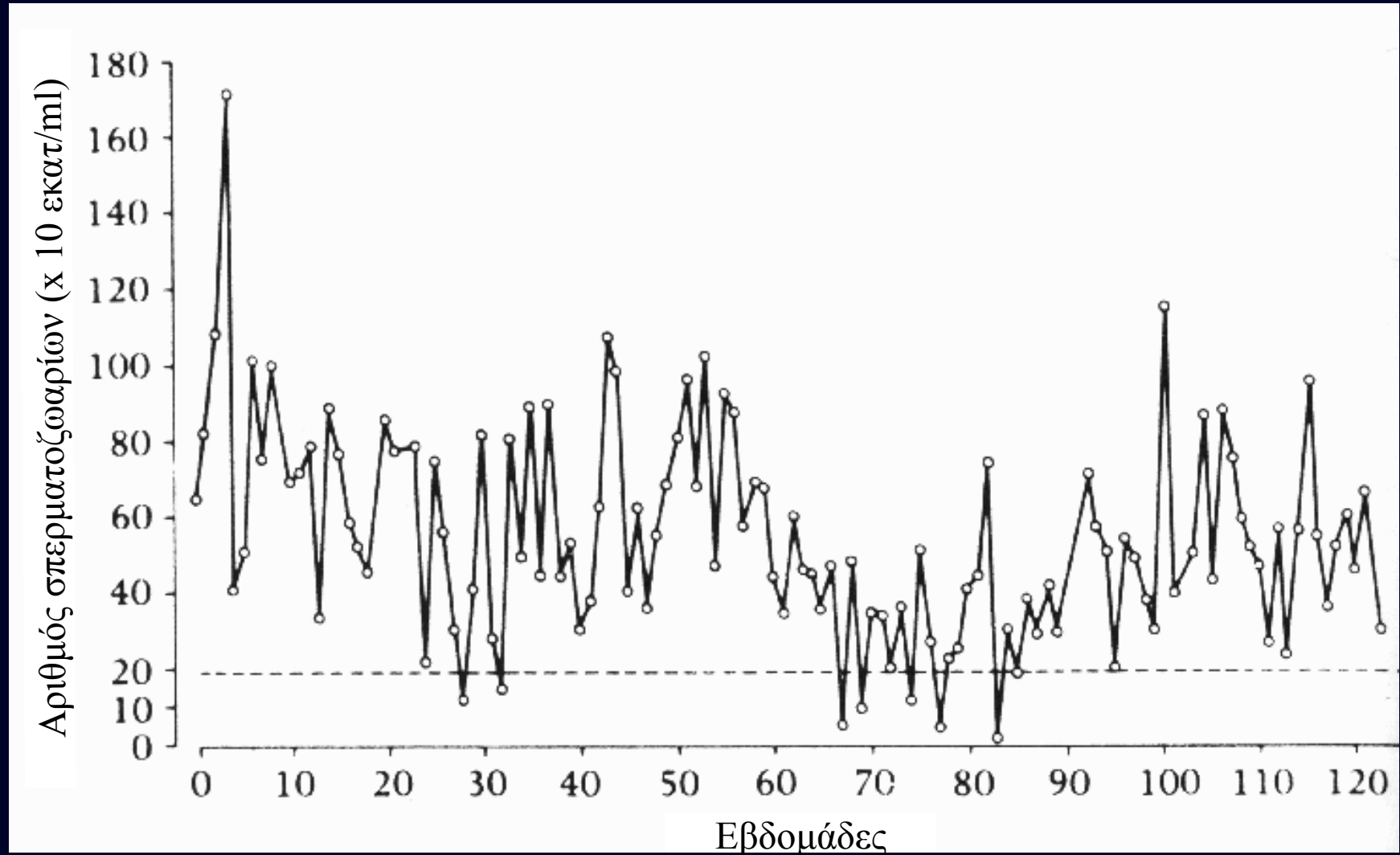
- Είδος
- Συνθήκες/χρησιμότητα



Μέτρηση αριθμού σπερματοζωαρίων



Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων



Κινητικότητα σπερματοζωαρίων

- Ποσοτική

Ποσοστό % των κινούμενων σπερματοζωαρίων

- Ποιοτική

Τρόπος κίνησης

Κλίμακα

1: Ακίνητα

2: Μη προωθητική κίνηση

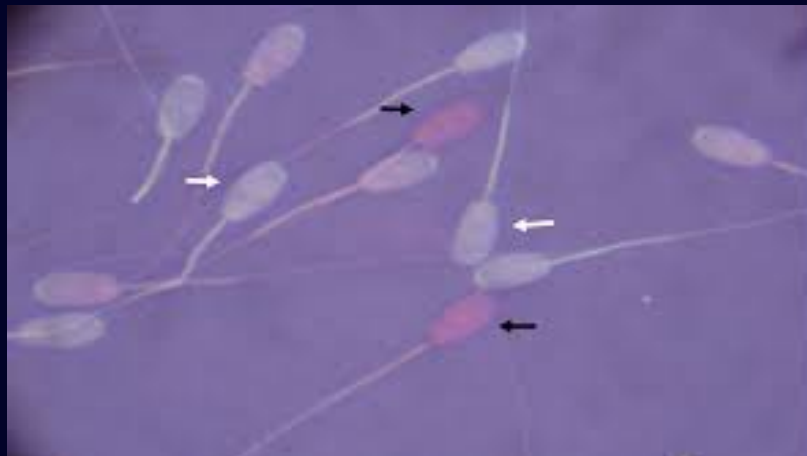
3: Αργή-Προωθητική κίνηση

4: Γρήγορη –Προωθητική κίνηση



Κινητικότητα σπερματοζωαρίων

Νεκρά ή ακίνητα;



χρώση εωσίνης (ή HOS ειδικά για την ΥΑ)

Μορφολογία σπερματοζωαρίων

Φυσιολογική
Άμορφη

Γιγάντιο

Μικρό

Επιμηκυσμένο

Διπλή κεφαλή

Άωρο

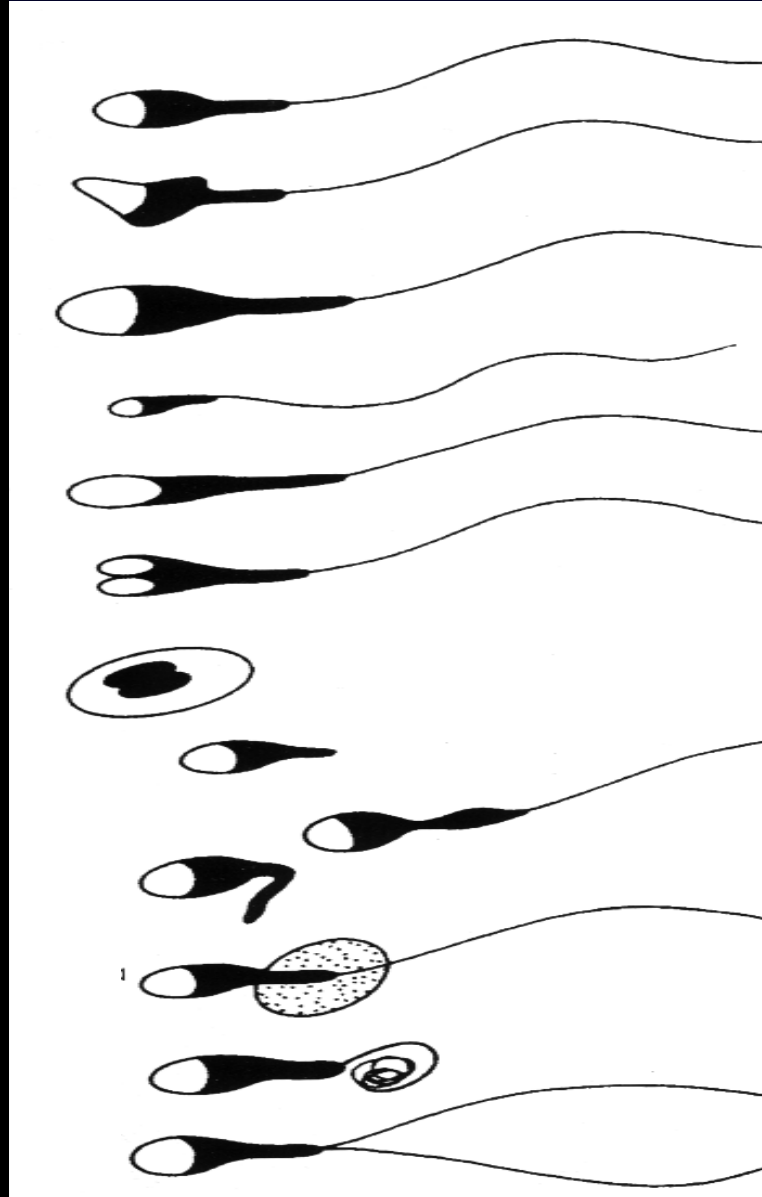
Δίχως ουρά

Ανωμαλίες μέσου τμήματος

Κυτ/τικά κενोटόπια

Ελικοειδής ουρά

Πολλαπλή ουρά

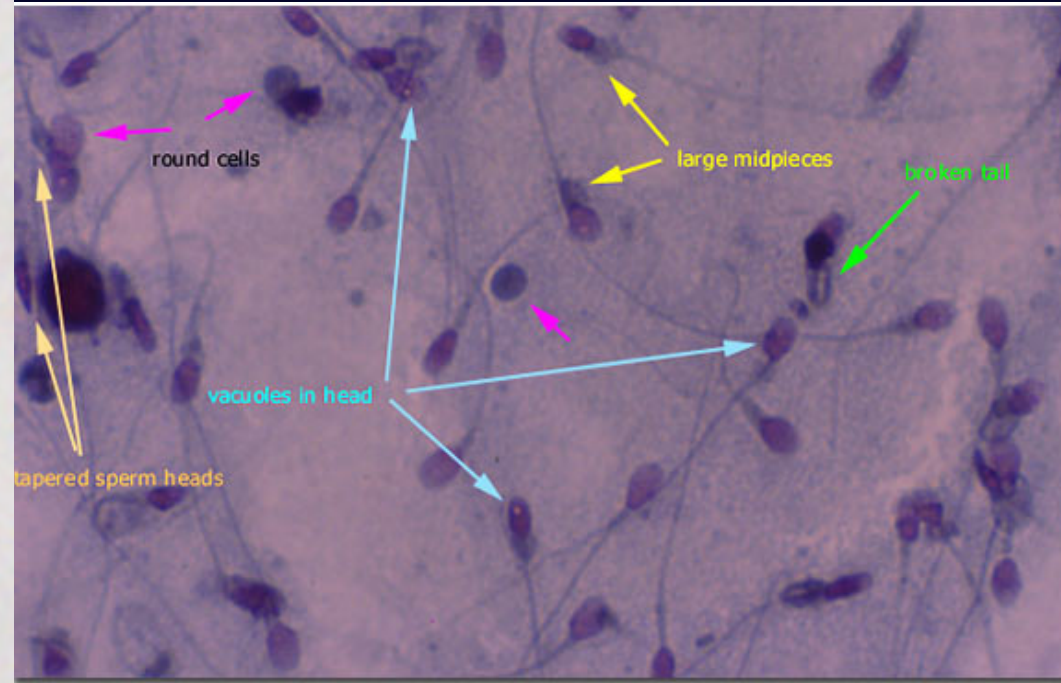
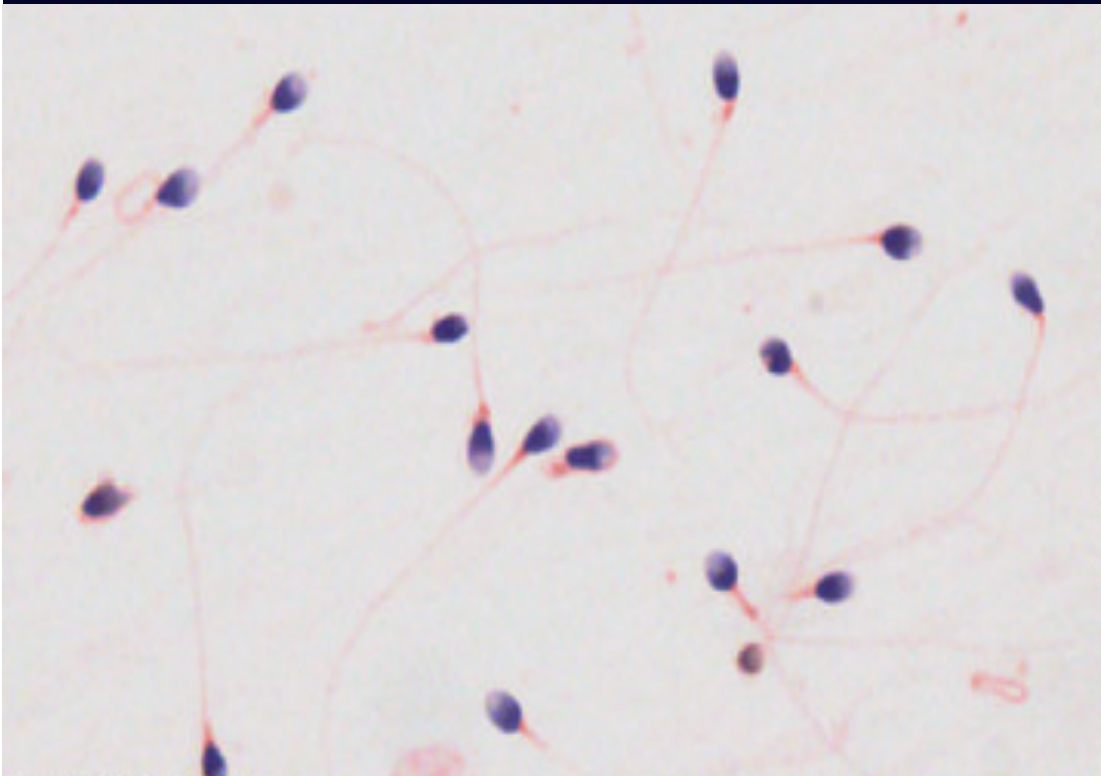


Πολλαπλές ανωμαλίες

Μορφολογία σπερματοζωαρίων

Teratozoospermia index

Συν. αριθμός ανωμαλιών/No των ανώμαλης μορφολογίας σπερματοζωαρίων

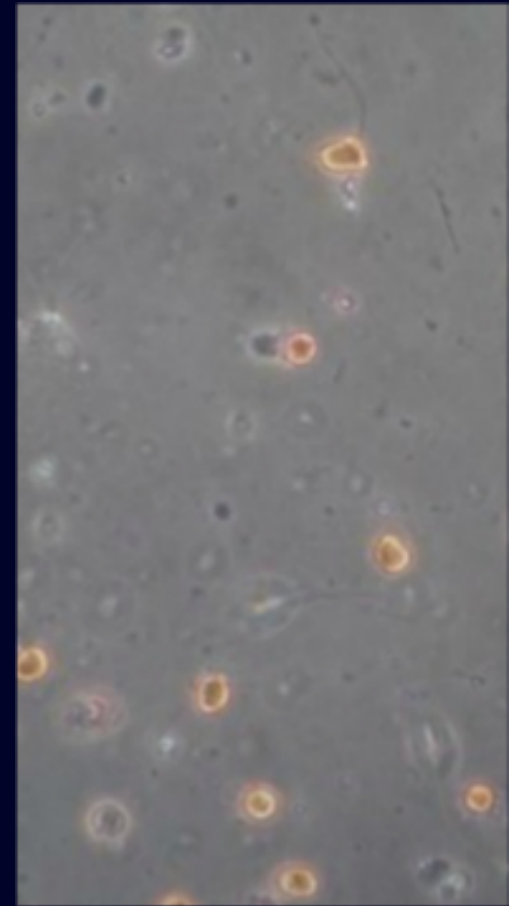
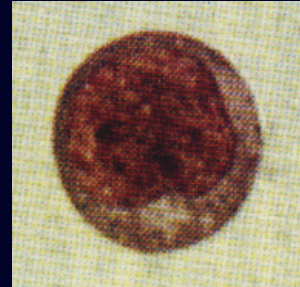
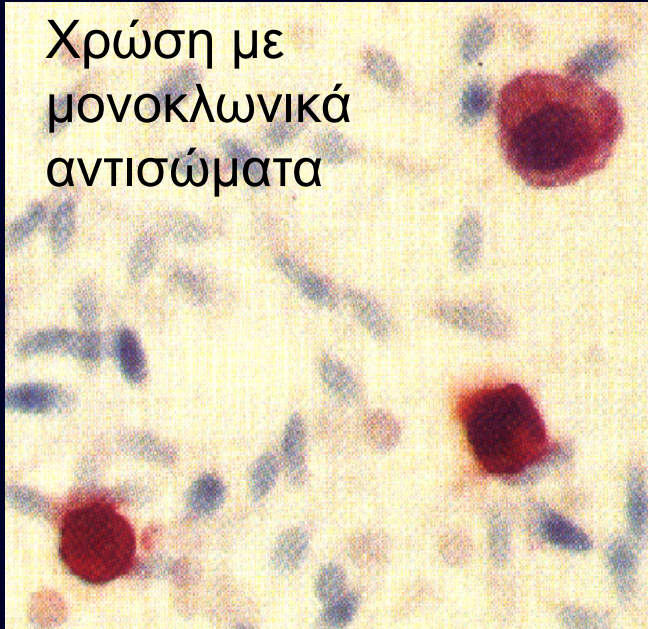


Χρώση Παπανικολάου VS Διαφορετικών ειδών χρώσης

Λευκοκύτταρα:

Ουδετερόφιλο πολυμορφοπύρηνο και Λεμφοκύτταρο

Χρώση με
μονοκλωνικά
αντισώματα



Κριτήρια φυσιολογικού σπέρματος σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (W.H.O.), 1992

Όγκος > 2 ml

pH 7.2 - 8

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων > 20 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. σπερματοζωαρίων > 40 εκατομμύρια

Κινητικότητα > 50 % grade a+b ή > 25% grade a

Μορφολογία > 30 % φυσιολογικά

Ζωτικότητα > 75 % ζωντανά

Λευκοκύτταρα < 1 εκατομμύριο/ ml

Έλεγχος αντισωμάτων < 20 % κινουμένων να αντιδρούν θετικά

Because these values
are not the minimum semen values needed for conception,
*eg obtained by evaluation of
in vitro or in vivo fertility
in a subfertile population,*
their categorization
has been changed
from “normal” values to “reference” values

WHO, 1999

Τιμές αναφοράς των χαρακτηριστικών του σπέρματος σύμφωνα με τον W.H.O., 1999

Όγκος > 2 ml

pH > 7.2

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων > 20 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. σπερματοζωαρίων > 40 εκατομμύρια

Κινητικότητα > 50 % grade a+b ή > 25% grade a

Μορφολογία > 15 % φυσιολογικά *

Ζωτικότητα > 50 % ζωντανά

Λευκοκύτταρα < 1 εκατομμύριο/ ml

Έλεγχος αντισωμάτων < 50 % κινουμένων να αντιδρούν θετικά

Τιμές αναφοράς των χαρακτηριστικών του σπέρματος σύμφωνα με τον W.H.O., 2010

Όγκος > 1.5 ml

pH > 7.2

Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων > 15 εκατομμύρια/ ml

Συνολικός αρ. σπερματοζωαρίων > 39 εκατομμύρια

Κινητικότητα > 32 % grade a+b ή > 25% grade a

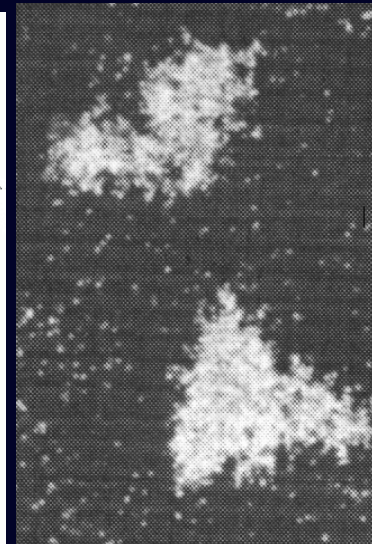
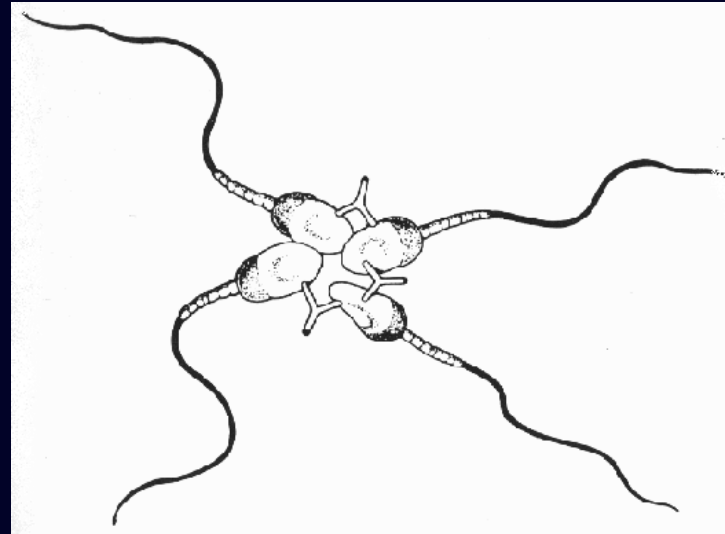
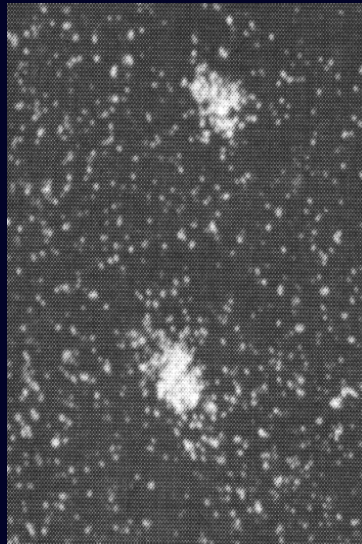
Μορφολογία > 4 % φυσιολογικά *

Ζωτικότητα > 75 % ζωντανά

Λευκοκύτταρα < 1 εκατομμύριο/ ml

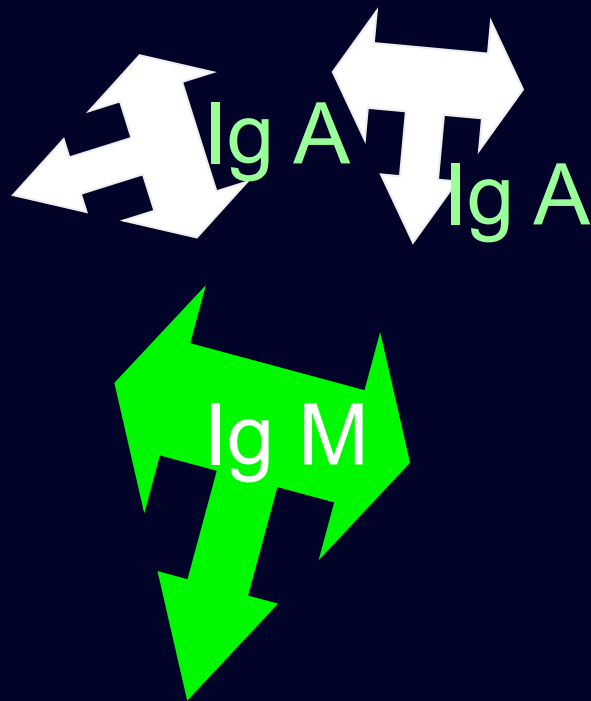
Έλεγχος αντισωμάτων < 50 % κινουμένων να αντιδρούν θετικά

Συγκόλληση σπερματοζωαρίων
VS
Συσωματώματα σπερματοζωαρίων



Βασικές εξετάσεις

Έλεγχος αντισπερματικών αντισωμάτων



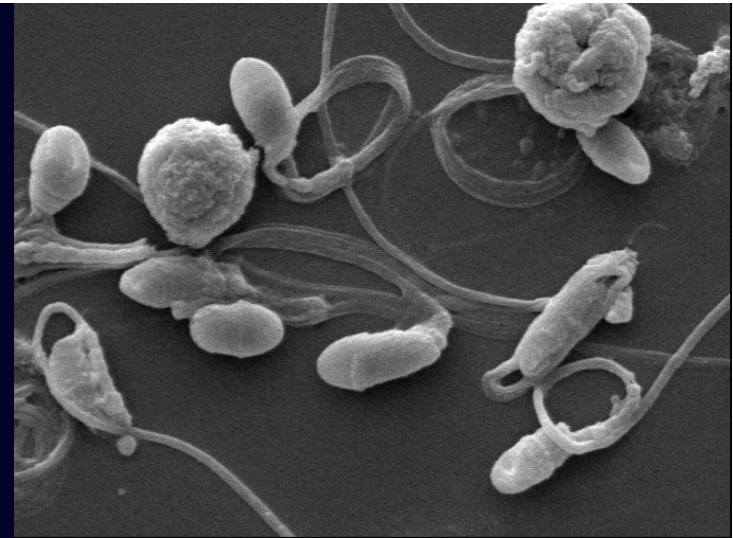
- **Mixed Antiglobulin Reaction**
(στοιχεία latex με Ig G ή Ig A)

- **ImmunoBead Test**
(σφαιρίδια πολυακρυλαμίδης με ανοσοσφαιρίνες)

συχνά αντικρουόμενα αποτελέσματα

Προαιρετικές εξετάσεις

- Καλλιέργεια
(για αερόβιους και αναερόβιους οργανισμούς)
- C.A.S.A.
- Έλεγχος βιωσιμότητας (**HOS**)
- Βιοχημικές εξετάσεις
- Κατακερματισμός DNA



Βιοχημικές εξετάσεις

Κιτρικό οξύ
Ψευδάργυρος
Όξινη φωσφατάση

Προστάτης

Φρουκτόζη

Σπερματοδόχες κύστεις

L- καρνιτίνη
α- Γλυκοσιδάση

Επιδιδυμίδα

Διερευνητικές εξετάσεις

- Ελεύθερες ρίζες (Reactive Oxygen Species)
 - Έλεγχος ακροσώματος
 - Μορφολογία με C.A.S.A.

Όταν η συγκέντρωση είναι $< 15 \text{ M/ml}$...

Συνολικός αριθμός και συγκέντρωση

- Ολιγοσπερμία λόγω:
 - Απώλεια μέρους δείγματος
 - Μερική απόφραξη γεννητικών οδών
 - Γεννητικές ανωμαλίες/σύνδρομα
 - Φάρμακα
 - Έκθεση σε παρατεταμένη υψηλή θερμοκρασία

Συνολικός αριθμός και συγκέντρωση

- Αζωοσπερμία μπορεί να οφείλεται:
 - Απόφραξη των σπερματικών οδών
 - Υπογοναδισμό
 - Ιατρογενής (πχ χημειοθεραπεία)
 - Ιδιοπαθής (με κύρια αίτια τα γεννητικά)

Συνολικός αριθμός και συγκέντρωση

- Σε αζωοσπερμία επαναλαμβάνουμε την εξέταση
- Πριν την διάγνωση της αζωοσπερμίας πρέπει να φυγοκεντρηθεί το δείγμα (κρυπτοαζωοσπερμία)
- Μπορεί να ενδείκνυται χημικά ανάλυση του δείγματος (φρουκτόζη, κιτρικό οξύ, α-ουδέτερη γλυκοσιδάση)
 - Απουσία φρουκτόζης = πιθανή απόφραξη

(Jarow et al. 1989)

Όταν η κινητικότητα είναι $< 40\%$

Όγκος	3 ml	
pH	8.1	
Ρευστοποίηση	Φ	
Ημέρες αποχής	3	
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων	6	εκατομμύρια/ ml
Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων	18	εκατομμύρια
Κινητικότητα	20 %	
Γρήγορη προωθητική	-%	
Αργή προωθητική	-%	
Μη προωθητική	20%	
Ακίνητα	80%	
Μορφολογία	4 % φυσιολογικά	
Κεφαλής	15	
Μεσαίου τμήματος	35	
Ουράς	5	
Κυτταροπλασματικές κηλ.	5	
Πολλαπλές ανωμαλίες	15	
Ζωντανά	>75%	

Κινητικότητα

- Ασθενοσπερμία – οργανικά αίτια
 - ASA
 - Παρατεταμένη αποχή
 - Λοίμωξη γενετικών οργάνων (πληθώρα λευκών / οξειδωτικό στρες)
 - Μερική απόφραξη εκσπερματιστικών οδών
 - Kartagener syndrome
 - Young syndrome
 - Κιρσοκήλη

Κινητικότητα

- Ασθενοσπερμία – εξωτερικοί παράγοντες
 - Σπερματοτοξικοί παράγοντες
 - Λιπαντικά
 - Μη κατάλληλη μεταφορά δείγματος
 - Ακατάλληλα προφυλακτικά
 - Παρατεταμένος χρόνος για την εξέταση του δείγματος

Όταν η μορφολογία είναι $< 4\%$

Μορφολογία

- Υπάρχει σημαντική δυσκολία στο συσχετισμό μορφολογίας – ποσοστό εγκυμοσύνης
- Χαμηλά ποσοστά φυσιολογικών μορφών σχετίζονται με:
 - χαμηλότερα επίπεδα ακροσίνης στα σπερματοζωάρια
 - μικρότερη γονιμοποιητική ικανότητα

- Η κακή μορφολογία σχετίζεται με:

- αυξημένο **DNA fragmentation**

(Gandini, Lombardo et al. 2000)

- αυξημένη πιθανότητα δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών

(Lee, Kamiguchi et al. 1996)

- ανώριμη χρωματίνη

(Dadoune, Mayaux et al. 1988)

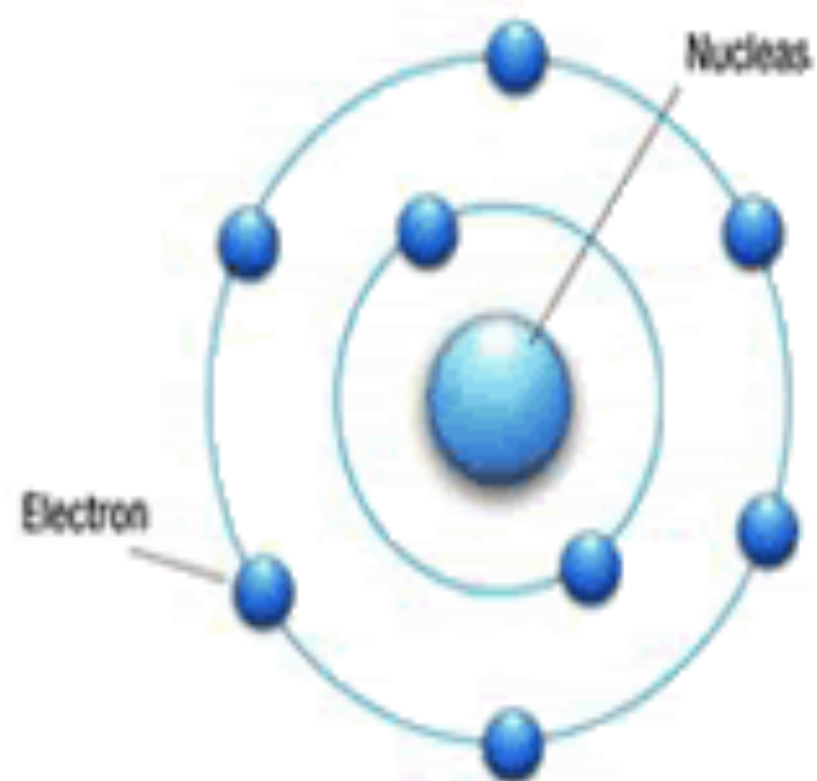
- **aneuploidy**

(Devillard, Metzler-Guillemain et al. 2002; Martin, Rademaker et al. 2003).

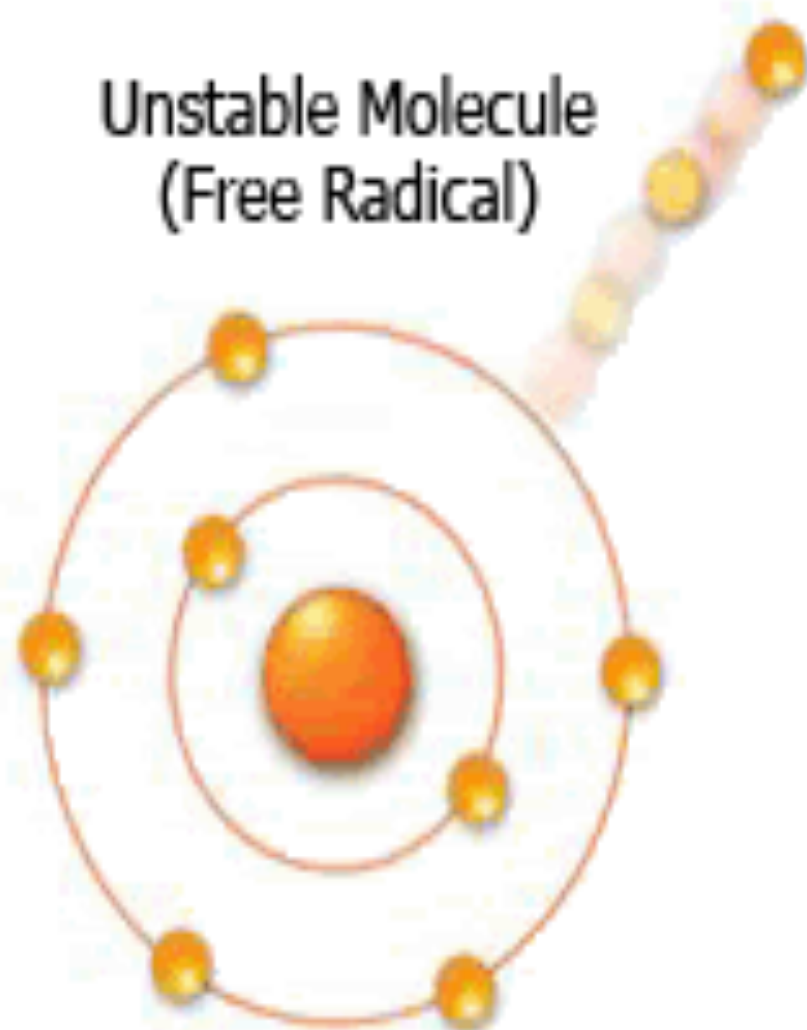
Όταν τα λευκοκύτταρα είναι $> 1\text{M/ml}$

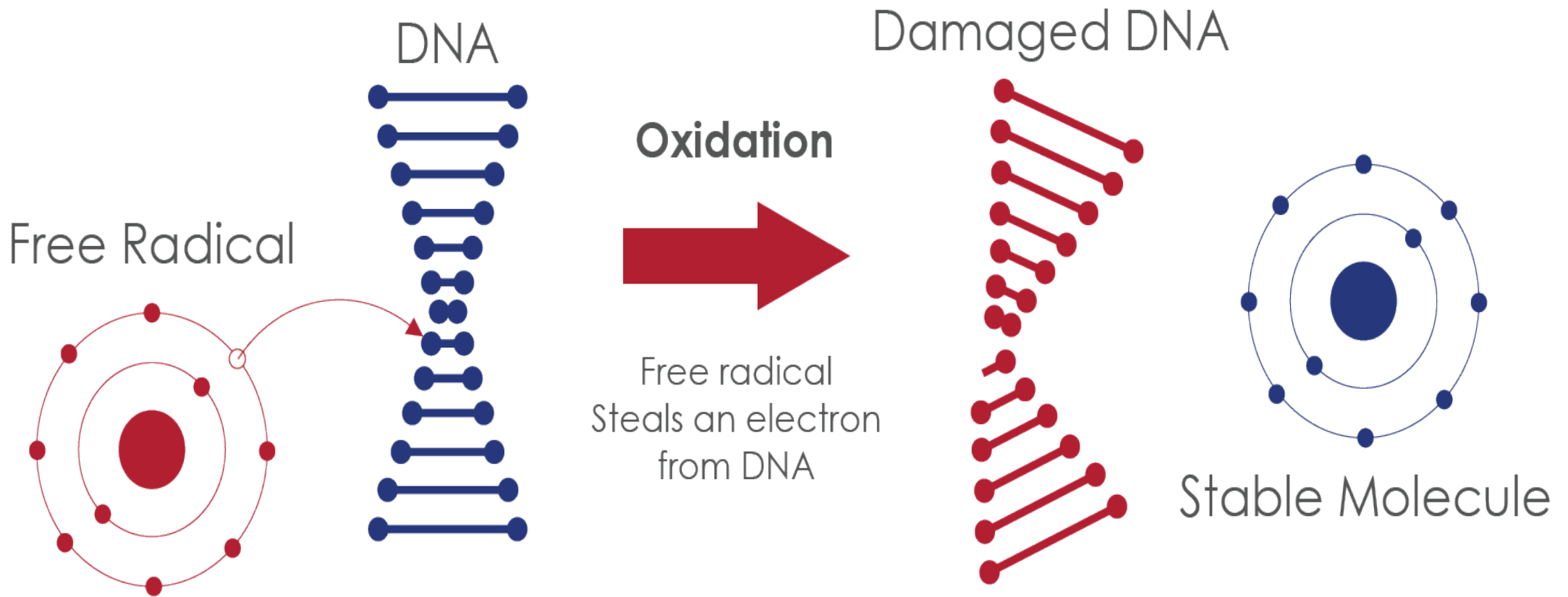
- θετική συσχέτιση μεταξύ λευκών και συνολικού αριθμού μικροοργανισμών στο σπέρμα
- Η πληθώρα λευκών δρα αρνητικά στα σπερματοζωάρια λόγω:
 - Μεγάλης παραγωγής ROS και κυτταροτοξικών κυτοκινών
 - αυξημένου sperm DNA fragmentation
 - Μειωμένη δεισδητικής ικανότητας των σπερματοζωαρίων

Stable Molecule

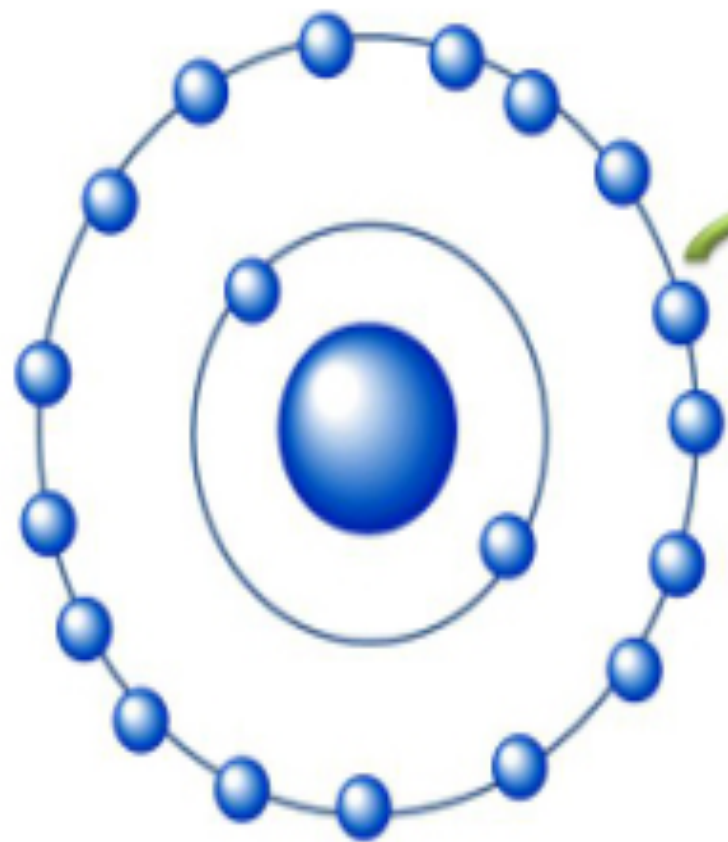


Unstable Molecule
(Free Radical)



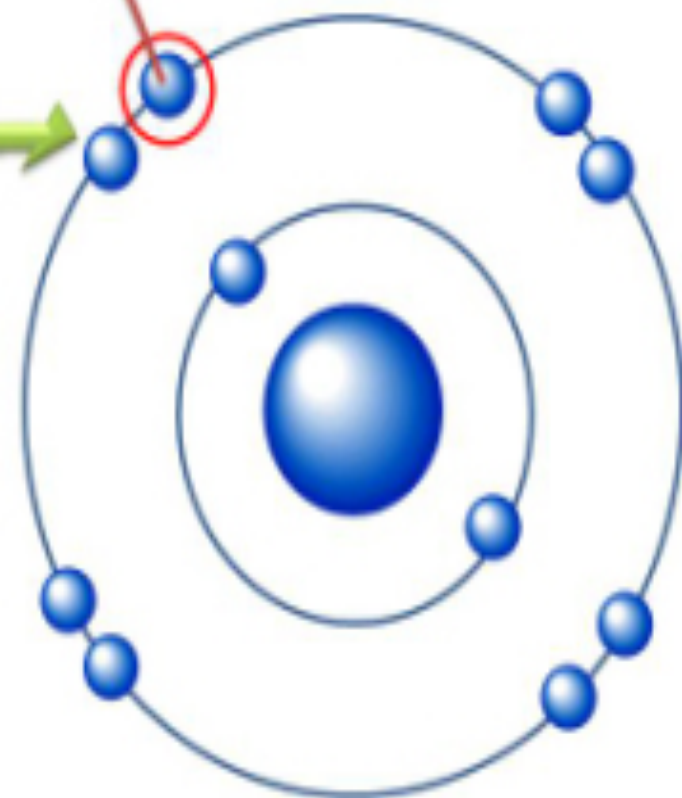


Antioxidant



Unpaired Electron

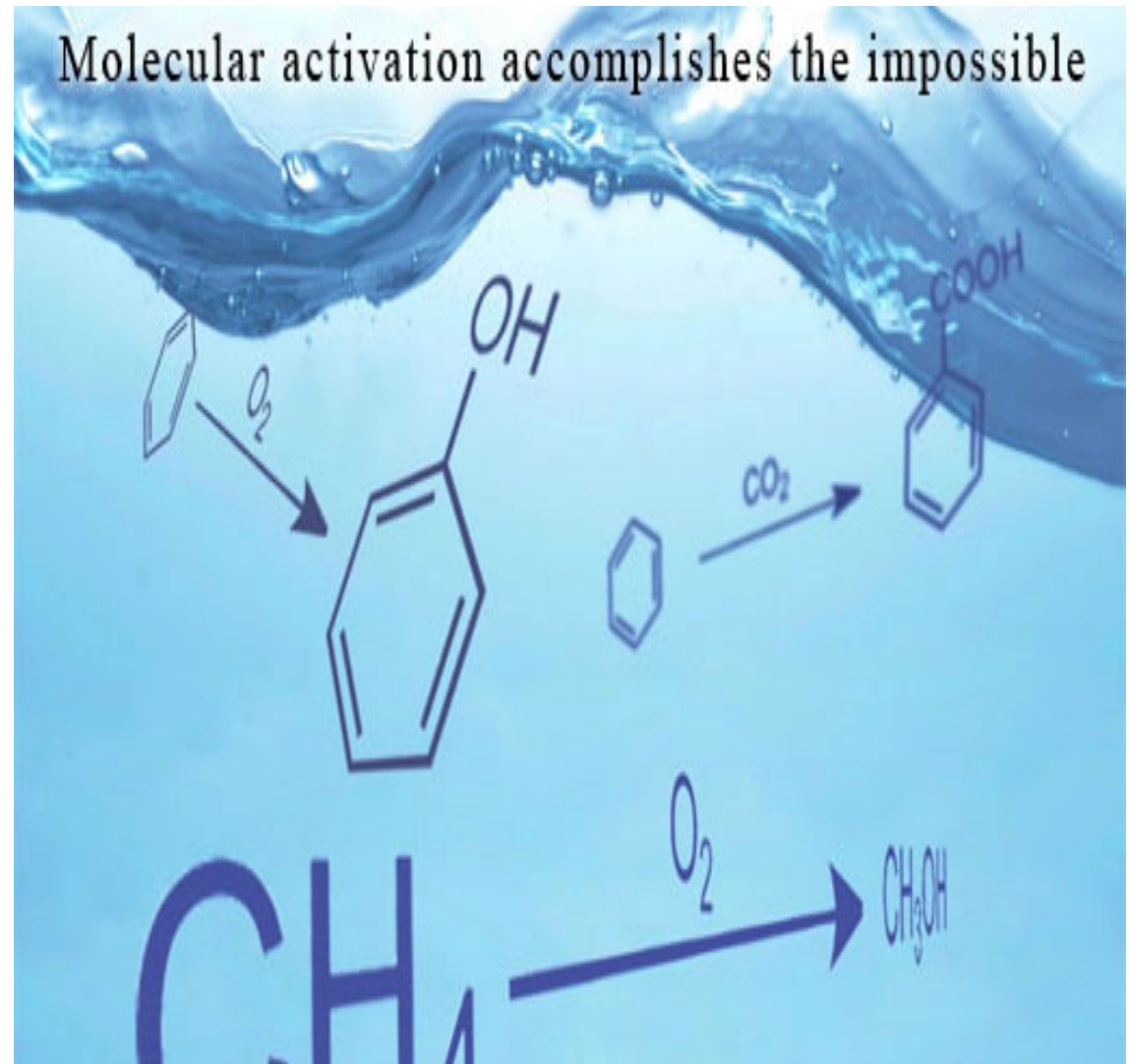
**Electron
Donation**



Free Radical

MOLECULAR ACTIVATION

- η **ΜΟΡΙΑΚΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ** είναι απαραίτητη και ουσιώδης στο να αποκτηθεί η μέγιστη βιολογική δραστηριότητα και, ως συνέπεια, η μέγιστη αποτελεσματικότητα, στη θεραπεία νόσων οι οποίες άμεσα ή έμμεσα παράγουν ελεύθερες ρίζες.



Συγκολλήσεις - Συσσωματώματα

- Η παρουσία συγκολλήσεων δεν υποδεικνύει κάποιο ανοσολογικό αίτιο υπογονιμότητας αλλά υποδηλώνει παρουσία ASA και χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

- Σημαντικός βαθμός συγκολλήσεων μπορεί να επηρεάσει την εκτίμηση της κινητικότητας και της συγκέντρωσης των σπερματοζωαρίων

Η συσσωμάτωση ακίνητων σπερματοζωαρίων μεταξύ τους ή κινητών σπερματοζωαρίων με βλέννη κυτταρικά κατάλοιπα ή μη σπερματικά κύτταρα πρέπει να θεωρείται και να καταγράφεται ως μη ειδική

Μη σπερματικά κύτταρα

- Παρουσία ανώριμων σπερματικών κυττάρων σχετίζεται συνήθως με χαμηλό αριθμό σπερματοζωαρίων
- Η παρουσία μη σπερματικών κυττάρων υποδηλώνει:
 - Ορχική βλάβη με μειωμένη ενδοορχική τεστοστερόνη
(Sofikitis, Ono et al. 1999)
 - Φλεγμονή των επικουρικών γεννητικών αδένων (όταν συνυπάρχουν αυξημένα λευκά στο σπέρμα).

Μη σπερματικά κύτταρα

- Η παρουσία **ερυθρών** υποδεικνύει παθολογία στην γεννητική οδό
- Η παρουσία **μικροοργανισμών** υποδεικνύει γεννητική λοίμωξη
- **επιθηλιακά κύτταρα** ανευρίσκονται περιστασιακά στην εκσπερμάτιση χωρίς κλινική σημασία