

# Κλινική αξιολόγηση του σπερματοδιαγράμματος και διερεύνηση της δυσπερμίας

Ε.Γ. ΚΟΥΚΚΟΥ

29

*Ενδοκρινολόγος, Νοσοκομείο/Μαιευτήριο «Ελενα Βενιζέλου», Αθήνα*

Το σπερμοδιάγραμμα αποτελεί βασική εξέταση κατά την διερεύνηση της ανδρικής υπογονιμότητας και οι πληροφορίες που συλλέγονται από αυτό σε συνδυασμό με ένα καλό ιστορικό και κλινική εξέταση αρκούν μερικές φορές για να θέσουν την διάγνωση, ή τουλάχιστον να την κατηγοροποιήσουν σε ενδοκρινικής ή ανατομικής αιτιολογίας.

Με εξαίρεση την αζωοσπερμία και την πλήρη ασθενοζωοσπερμία, η εξέταση του σπέρματος μόνη της δεν είναι δυνατόν να χαρακτηρίσει έναν άνδρα μη γόνιμο. Όσο οι παράμετροι του σπέρματος αποκλίνουν από το "φυσιολογικό" η πιθανότητα γονιμοποίησης του ωαρίου και σύλληψης ελαττώνεται αλλά δεν μηδενίζεται. Κατά την αξιολόγηση του σπερματοδιαγράμματος είναι απαραίτητο να γίνεται σαφής διαχωρισμός ανάμεσα στις "φυσιολογικές μέσες τιμές" των παραμέτρων και στις ελάχιστες απαραίτητες για γονιμότητα τιμές των παραμέτρων που εξετάζονται. Για παράδειγμα ενώ η μέση φυσιολογική τιμή για τον αριθμό των σπερματοζωαρίων είναι 70-80 εκατομμύρια ανά κυβικό εκατοστό εκσπερματήματος η σύλληψη είναι δυνατή και με συγκεντρώσεις μέχρι και 20 εκατομ/ κ.εκ. Η "φτωχή ικανότητα" του σπερματοδιαγράμματος να προβλέψει την γονιμότητα έχει επιδειχθεί σε πολλές μελέτες και φαίνεται να ισχύει κυρίως όταν αναφερόμαστε σε μεγαλύτερους άνδρες (>45 ετών) και σε νεαρούς.

Η αξιολόγηση δύο τουλάχιστον δειγμάτων σπέρματος σε διάστημα μερικών εβδομάδων είναι απαραίτητη. Σε περιπτώσεις που τα αποτελέσματα των εξετάσεων διαφέρουν πολύ μεταξύ τους είναι απαραίτητος ο επανέλεγχος στους επόμενους 2 με 3 μήνες, ιδιαίτερα αν αναφέρεται στο ιστορικό έκθεση σε "σπερμοτοξικούς" παράγοντες, όπως π.χ. πυρετικό επεισόδιο. Οι συνθήκες λήψης του δείγματος πρέπει να είναι "σταθερές" μετά από αποχή 2-3 ημερών, το δείγμα να συλλέγεται σε ειδικό ευρύστομο δοχείο μετά από αυνανισμό, κατά προτίμηση, και να εξετάζεται το συντομότερο μετά την λήψη (<2 ώρες).

Η ανάλυση ενός δείγματος σπέρματος περιλαμβάνει την μακροσκοπική, τη μικροσκοπική, ενίοτε και με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τη μικροβιολογική και την βιοχημική εξέταση καθώς και τον ανοσολογικό έλεγχο. Οι αναλύσεις αυτές καταγράφονται από τον εξεταστή και είναι απαραίτητο να αξιολογηθούν από τον κλινικό γιατρό χωριστά αλλά και σε συνδυασμό όλες οι παράμετροι που αναφέρονται στην έκθεση.

### **Μακροσκοπική εξέταση**

Η μακροσκοπική εξέταση του δείγματος καταγράφει τον όγκο, την εμφάνιση, το χρώμα και την οσμή του εκσπερματίσματος. Το φυσιολογικό σπέρμα έχει όγκο μεγαλύτερο από 2ml, είναι πυκνόρρευστο με χροιά λευκόφαιη-οπαλίζουσα και χαρακτηριστική οσμή με pH 7.2-8.0. Σε θερμοκρασία δωματίου ρευστοποιείται εντός 20 λεπτών.

Μικρός όγκος σπέρματος δυνατόν να είναι αποτέλεσμα κακής συλλογής ή ακόμα και μικρού χρόνου αποχής πριν από την συλλογή του δείγματος. Αν αυτά αποκλεισθούν είναι ενδεικτικά απόφραξης των σπερματικών πόρων, παλίνδρομης εκσπερμάτισης ή ακόμα και υπογοναδισμού. Μεγάλος όγκος (>8ml) δεν έχει πρακτική κλινική σημασία.

Καφεκόκκινη χροιά σημαίνει παρουσία αίματος. Η πρόσμιξη αίματος-αιμοσπερμία, είναι συνήθως αποτέλεσμα μικροαιμορραγιών από την ουρήθρα όμως είναι απαραίτητο να αποκλεισθεί η περίπτωση κακοήθειας, ή χρόνιας λοίμωξης (π.χ.ΤΒC) από το ουρογεννητικό. Κιτρινωπή χροιά, πυώδης εμφάνιση και κακή οσμή είναι ενδεικτική λοίμωξης, ενώ κιτρινωπή απόχρωση υπάρχει επίσης επί ικτέρου ή χρήσης σουλφασαλαζίνης (για ελκώδη κολίτιδα, νόσο Crohn κλπ), ή βιταμινούχων σκευασμάτων.

Διαταραχή της ρευστοποίησης και του ιξώδους είναι συχνές επί λοιμώξεων των επικουρικών αδένων, ενώ συγκολλήσεις υπάρχουν εκτός από τις λοιμώξεις και επί ύπαρξης αυτοαντισωμάτων.

Τιμή pH>8.0 θέτει την υποψία λοίμωξης, ενώ pH<7.2 σε συνδυασμό και με αζωοσπερμία είναι ενδεικτικά δυσπλασίας ή απόφραξης των επιδιδυμίδων, των εκφορητικών πόρων, των σπερματοδόχων κύστεων ή των εκσπερματιστικών πόρων.

### **Μικροσκοπική εξέταση**

Πέρα από την καταγραφή ύπαρξης συγκολλήσεων των σπερματοζωαρίων, εύρημα ενδεικτικό υπογονιμότητας ανοσολογικής αιτιολογίας κατά την μικροσκοπική εξέταση του δείγματος εξετάζονται και καταγράφονται ο αριθμός, η κινητικότητα και η μορφολογία των σπερματοζωαρίων.

## Αριθμός σπερματοζωαρίων

Αν και δεν έχει επιστημονικά τεκμηριωθεί ότι η γονιμοποιητική ικανότητα ενός σπέρματος είναι ευθέως ανάλογη με τον αριθμό των σπερματοζωαρίων, ο αριθμός των 20.000.000/ml με ελάχιστο ολικό αριθμό τα 40.000.000 σπερματοζωάρια έχουν καθοριστεί από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (ΠΟΥ) ως τα κατώτερα όρια αναφοράς.

Συγκεντρώσεις σπερματοζωαρίων <20 million/mL χαρακτηρίζονται ως ολιγοζωοσπερμία. Ο αριθμός αυτός μάλλον βασίζεται στην εργασία των MacLeod & Gold, οι οποίοι βρήκαν ότι μόνο το 5% των γόνιμων ανδρών είχαν συγκέντρωση σπερματοζωαρίων <20 million/mL. Πιο πρόσφατες μελέτες επιβεβαιώνουν την ισχύ του αριθμού αυτού, αν και στην νέα έκδοση του εγχειριδίου της ΠΟΥ για την εξέταση του σπέρματος θα προταθούν χαμηλότερα όρια αναφοράς (<14million/mL).

Αζωοσπερμία καλείται η πλήρης έλλειψη σπερματοζωαρίων στο σπέρμα και πρέπει να επιβεβαιώνεται με επανάληψη της εξέτασης και έλεγχο μετά από φυγοκέντρηση του δείγματος και εξέταση του υπολείμματος. Επί μικρού όγκου είναι η αναγκαία η φυγοκέντρηση της ούρησης μετά την εκσπερμάτωση και η αναζήτηση σπερματοζωαρίων στο ίζημα. Η αζωοσπερμία δυνατόν να είναι παροδική σαν αποτέλεσμα πυρετικού επεισοδίου ή ή μερικής απόφραξης των σπερματικών πόρων. Η αζωοσπερμία δυνατόν να οφείλεται σε σοβαρή διαταραχή/έλλειψη σπερματογένεσης ή σε απόφραξη/ δυσλειτουργία της εκφορητικής οδού:

Αζωοσπερμία σε ασθενή με φυσιολογικά επίπεδα FSH, φυσιολογικό όγκο όρχεων, χαμηλά επίπεδα α-γλυκοσιδάσης στο σπερματικό πλάσμα και pH σπέρματος <7.2 είναι αποφρακτικού τύπου. Αντίθετα,

Αζωοσπερμία με υψηλά επίπεδα FSH σε συνδυασμό με μικρό (<6ml) όγκο όρχεων συνηγορεί υπέρ χρωμοσωμικής ανωμαλίας (σύνδρομο Klinefelter), ενώ αζωοσπερμία (ή και σοβαρή ολιγοζωοσπερμία) με μεγαλύτερο (>6ml) όγκο όρχεων είναι ενδεικτική πρωτοπαθούς διαταραχής της σπερματογένεσης

## Κινητικότητα σπερματοζωαρίων

Σύμφωνα με την ΠΟΥ η κινητικότητα των σπερματοζωαρίων έχει τις εξής διαβαθμίσεις: a: γρήγορη προς τα εμπρός κίνηση, b:αργή κίνηση, c:επιτόπια κίνηση-απουσιάζει η κίνηση προς τα εμπρός και d:ακινήσια. Η κινητικότητα του σπέρματος θεωρείται φυσιολογική όταν  $\geq 50\%$  των σπερματοζωαρίων έχουν προωθητική ικανότητα ή  $\geq 25\%$  των σπερματοζωαρίων έχουν ζωηρή προωθητική ικανότητα.

Ασθενοζωοσπερμία ορίζεται η απόκλιση των ορίων κινητικότητας των σπερματοζωαρίων κάτω των ως άνω πλαισίων. Ψευδής ασθενοζωοσπερμία δυνατόν να οφείλεται σε χρήση προφυλακτικού ή συλλογή του δείγματος σε πλαστικό δοχείο, χρήση σπερμοκτόνων ουσιών, ακραία θερμοκρασία περιβάλλοντος ή μεγάλη καθυστέρηση πριν τον έλεγχο του δείγματος, ιδίως σε χαμηλή θερμοκρασία. Σε περιπτώσεις λήψης του δείγματος εκτός εργαστηρίου συνιστάται η μεταφορά του σε

στενή επαφή με το σώμα.

Χαμηλή κινητικότητα των σπερματοζωαρίων συνήθως συνυπάρχει με μικρό αριθμό αλλά και με διαταραχές στην μορφολογία των σπερματοζωαρίων (ολιγοασθενοτερατοζωοσπερμία, ΟΤΑ) και είναι ενδεικτική διαταραχής της σπερματογένεσης. Γενετικός έλεγχος του άνδρα, ιδιαίτερα αν συνυπάρχει παρόμοιο οικογενειακό ιστορικό, συνιστάται σε σοβαρές περιπτώσεις. Η αναζήτηση μικροελλείψεων στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος Υ, ιδίως στις περιοχές που έχουν χαρακτηριστεί ως περιοχές του αζωοσπερμικού παράγοντα (Azoospermic Factor, AZF), έχει επιδείξει παρουσία μεταλλάξεων σε περιπτώσεις ΟΤΑ σε ποσοστό υψηλότερο σε σύγκριση με τον νορμοζωοσπερμικό πληθυσμό.

Δεδομένου ότι η αυξημένη παρουσία (>10%) ελευθέρων ριζών οξυγόνου στο σπερματικό πλάσμα-οξειδωτικό στρες- δυνατόν να προκαλέσει, πέρα από οξειδωτικές βλάβες στο DNA των σπερματοζωαρίων, και έκπτωση της κινητικότητάς τους συνιστάται έλεγχος ελευθέρων ριζών του δείγματος σε επιλεγμένες περιπτώσεις

### **Μορφολογία σπερματοζωαρίων**

Το φυσιολογικό σπερματοζωάριο έχει ωοειδές σχήμα κεφαλής και άθικτη ουρά. Το ακρόσωμα είναι σαφώς ορατό και καταλαμβάνει το 40-70% της επιφάνειας της κεφαλής. Μόνο μία ουρά είναι συμμετρικά τοποθετημένη στη βάση της κεφαλής χωρίς να είναι περιελιγμένη, σπασμένη ή διπλωμένη γύρω από τον άξονά της. Όλες οι αποκλίσεις από την ιδανική μορφολογία του σπερματοζωαρίου χαρακτηρίζονται ως ανωμαλίες και μπορεί να αφορούν και τις τρεις περιοχές του σπερματοζωαρίου. Υπάρχουν πολλές μορφές ανώμαλων σπερματοζωαρίων, όπως π.χ. με πολύ μεγάλη, πολύ μικρή, κωνοειδή ή αποοειδή κεφαλή. Επίσης παρατηρούνται κεφαλές με πολλά κενοτόπια, με σφαιρική μορφολογία, ενώ είναι επίσης δυνατόν να παρατηρηθούν σπερματοζωάρια με διπλή κεφαλή καθώς και με σπασμένη, ελικοειδή ή διπλή ουρά. Ειδικές διαταραχές στην μικροδομή του σπερματοζωαρίου δυνατόν να αποδειχθούν με την χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σε περιπτώσεις βαριάς ασθενοζωοσπερμίας.

*Τερατοζωοσπερμία* ορίζεται ποσοστό φυσιολογικών σπερματοζωαρίων <30%. Η χρήση των κριτηρίων Kruger προσφέρει μια πιο λεπτομερειακή ανάλυση της μορφολογίας του σπέρματος. Τα κριτήρια αυτά εκτιμούν πιο αυστηρά, σε σχέση με τα κριτήρια της ΠΟΥ, την μορφολογία των σπερματοζωαρίων και σύμφωνα με αυτά  $\geq 14\%$  των σπερματοζωαρίων πρέπει να είναι φυσιολογικά. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα αυστηρά κριτήρια έχουν προταθεί από μονάδες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής και κλασικοί μελετητές του σπέρματος αμφισβητούν την σημασία τους. Είναι σημαντικό να διευκρινίζεται κατά την εξέταση αν οι διαταραχές στην μορφολογία των σπερματοζωαρίων αφορούν πολλαπλά σημεία, ή υπερτερεί μια συγκεκριμένη δομική ανωμαλία, όπως σφαιρική κεφαλή επί έλλειψης ακροσώματος ή σπερματοζωάρια με κεφαλή καρφίτσας επί διαταραχής του κεντριολίου. Τότε

η ουρά αποκόπτεται από την κεφαλή που απορροφάται κατά την διέλευση του σπερματοζωαρίου από την επιδιδυμίδα και στο εκσπερμάτημα ανευρίσκονται μόνο οι ουρές με την κυτταροπλασματική σταγόνα να δίνει την χαρακτηριστική εμφάνιση κεφαλής καρφίτσας.

Η ορθή εκτίμηση της μορφολογίας του σπέρματος έχει μεγάλη σημασία γιατί ο κίνδυνος αποτυχίας της κλασσικής εξωσωματικής είναι υψηλός όταν το ποσοστό των μη φυσιολογικών σπερματοζωαρίων είναι μεγάλο. Αντίθετα, τα αποτελέσματα της ICSI είναι ανεξάρτητα της μορφολογίας του σπέρματος και οι ασθενείς με αυτή την διαταραχή πρέπει να κατευθύνονται προς την τεχνική αυτή.

### **Ζωτικότητα των σπερματοζωαρίων**

Εξετάζεται χρησιμοποιώντας την αρχή ότι ένα κύτταρο με ακέραια την κυτταροπλασματική του μεμβράνη δεν μπορεί να απορροφήσει την χρωστική ηωσίνη, ενώ ένα νεκρό κύτταρο, δηλαδή κύτταρο με καταστραμμένη κυτταροπλασματική μεμβράνη διαπεράται από την χρωστική και γίνεται έτσι διακριτό. Φυσιολογική ζωτικότητα ορίζεται όταν  $\geq 75\%$  των σπερματοζωαρίων είναι ζωντανά.

Η ελαττωμένη ζωτικότητα συνήθως συνοδεύεται από χαμηλή κινητικότητα ( $< 20-30\%$  ολική κινητικότητα- $< 5\%$  προωθητική κινητικότητα). Η ζωτικότητα του σπέρματος δυνατόν να μεταβάλλεται με την συχνότητα της σεξουαλικής επαφής και χαρακτηριστικά βελτιώνεται μετά από επανειλημμένη εκσπερμάτιση, οπότε και η διαταραχή αποδίδεται σε κακή "αποθήκευση" του σπέρματος στην ουρά της επιδιδυμίδας. Εμφανίζεται επίσης σε άτομα με βλάβη του νωτιαίου σωλήνα, ή πάσχοντες από πολυκυστική νόσο των νεφρών, κατάσταση που σχετίζεται και με εμφάνιση κύστεων στους εκφορητικούς πόρους. Στις περιπτώσεις αυτές είναι χαρακτηριστική η ύπαρξη αλλοιώσεων στην μικροδομή των σπερματοζωαρίων του εκσπερμάτισματος, αλλά η δομή των ώριμων σπερματίδων από ορχική βιοψία είναι φυσιολογική. Στα ζευγάρια αυτά συνιστάται συχνή σεξουαλική επαφή, 1-2 φορές ημερησίως για 3 με 4 ημέρες πριν την ωοθυλακιορρηξία.

### **Μικροβιολογική εξέταση**

Στο φυσιολογικό σπέρμα μπορεί να παρατηρηθούν κυτταρικά στοιχεία που δεν προέρχονται από το σπερματικό επιθήλιο, όπως: λευκοκύτταρα, τα οποία σε αριθμό μικρότερο από 106/ml δεν έχουν παθολογική σημασία, ερυθροκύτταρα, που ανευρίσκονται μόνο επί αιμοσπερμίας, επιθηλιακά κύτταρα που προέρχονται από την ουρήθρα και δεν έχουν παθολογική σημασία και τέλος μικροοργανισμοί. Οι τελευταίοι, όταν είναι σε μικρούς αριθμούς θεωρούνται ως συμβιώντες του αναπαραγωγικού συστήματος, ενώ σε μεγαλύτερους μπορεί να δηλώνουν επιμόλυνση του δείγματος ή λοίμωξη, οπότε και συνιστάται καλλιέργεια και αντιμετώπιση ανάλογα με το αντιβιογράμμα.

## Βιοχημική εξέταση

Στο εκσπερμάτισμα περιέχεται ένα πλήθος χημικών ουσιών, κάθε μια από τις οποίες παράγεται από συγκεκριμένο όργανο ή τμήμα του αναπαραγωγικού συστήματος. Έτσι, η συγκέντρωσή της μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης για την ακεραιότητα και την λειτουργία του. Οι ουσίες αυτές είναι:

Η φρουκτόζη και οι προσταγλαδίνες, που εκκρίνονται κυρίως από τις σπερματοδόχους κύστες. Χαμηλή συγκέντρωση φρουκτόζης στο σπερματικό πλάσμα δυνατόν να σημαίνει αμφοτερόπλευρη αγενεσία ή σοβαρή δυσλειτουργία των σπερματοδόχων κύστεων ή απόφραξη των εκσπερματιστικών πόρων. Η διερεύνηση με διορθικό υπερηχογράφημα πριν και μετά την εκσπερμάτιση θα βοηθήσει στην διάγνωση.

Η όξινη προστατική φωσφατάση, ο ψευδάργυρος και το κιτρικό οξύ αποτελούν δείκτες εκτίμησης της προστατικής λειτουργίας.

Τέλος, η L-καρνιτίνη, η γλυκεροφωσφοχολίνη και η ουδέτερη α-γλυκοσιδάση, αποτελούν δείκτες της λειτουργίας των επιδιδυμίδων. Επι αζωοσπερμίας, τα πολύ χαμηλά ή μηδενικά επίπεδα της α-γλυκοσιδάσης, σε συνδυασμό με φυσιολογικό όγκο όρχεων και φυσιολογική FSH, θέτουν την υποψία της αμφοτερόπλευρης απόφραξης των επιδιδυμίδων ή των εκφορητικών πόρων.

## Συνοψίζοντας

Η κλινική αξιολόγηση του σπερμοδιαγράμματος μπορεί να δώσει πολλές πληροφορίες κατά την εκτίμηση του υπογόνιμου άνδρα και να βοηθήσει στην διαφοροδιάγνωση με βάση τον αλγόριθμο που ακολουθεί.

Δεδομένου ότι συνήθως οι επί μέρους παράμετροι του σπερμοδιαγράμματος δεν διαταράσσονται μεμονωμένα, στην κλινική πράξη χρησιμοποιείται η εκτίμηση του Ολικού λειτουργικού κλάσματος, το οποίο υπολογίζεται με τον ακόλουθο μαθηματικό τύπο:

Όγκος(mL) Χ συγκέντρωση(10<sup>6</sup>) Χ κινητικότητα (%) Χ μορφολογία (%)/ 10<sup>4</sup>. Η χρήση του ολικού λειτουργικού κλάσματος είναι ιδιαίτερα χρήσιμη κατά την παρακολούθηση του εξεταζόμενου άνδρα και την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας τυχόν θεραπευτικής αγωγής που αποσκοπεί στην βελτίωση του σπέρματος.

## Επιλεγμένη βιβλιογραφία

WHO Laboratory Manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press, 1999

Diagnostic Approach to the Infertile Male Patient, Jonathan P. Jarow, MD, in Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 2007, 36(2) Andrology 2007.

World Health Organization reference values for human semen characteristics, Trevor G. Cooper et al. Human Reproduction Update Advance Access published, December 4, 2009