

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
- προηγούμενες 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

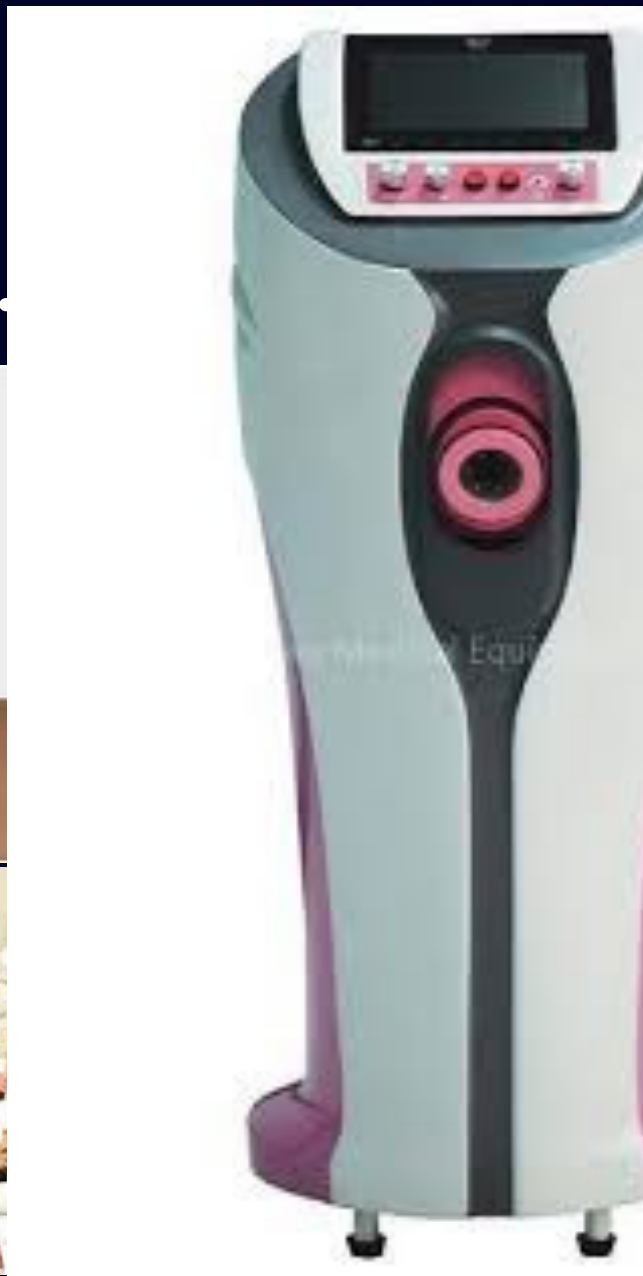
- Τόπος...
  - Τρόπος...
  - Χρόνος (ώρα – χρονική απόσταση),  
... παραγωγής δείγματος
- 
- Η λήψη στο εργαστήριο
  - Από το κυπελάκι...έως το ISO

# 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

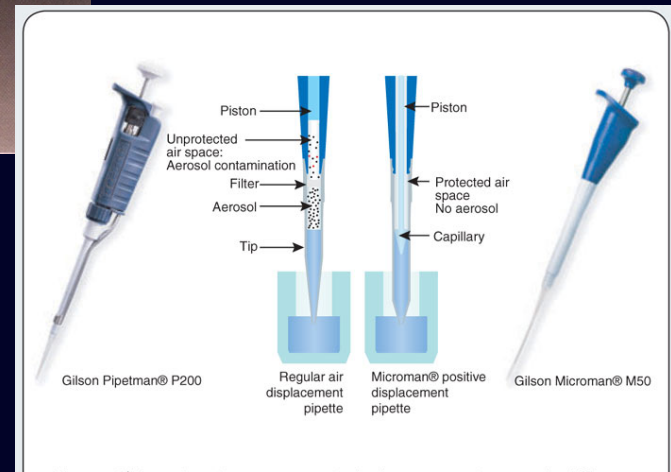
- Τόπος...
- Τρόπος...
- Χρόνος (ώρα – χρονική απόσταση)

... παραγωγής δείγματος

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



# Η συντήρηση και η διαχείριση του δείγματος



Πιπετα θετικής μετατόπισης

# 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

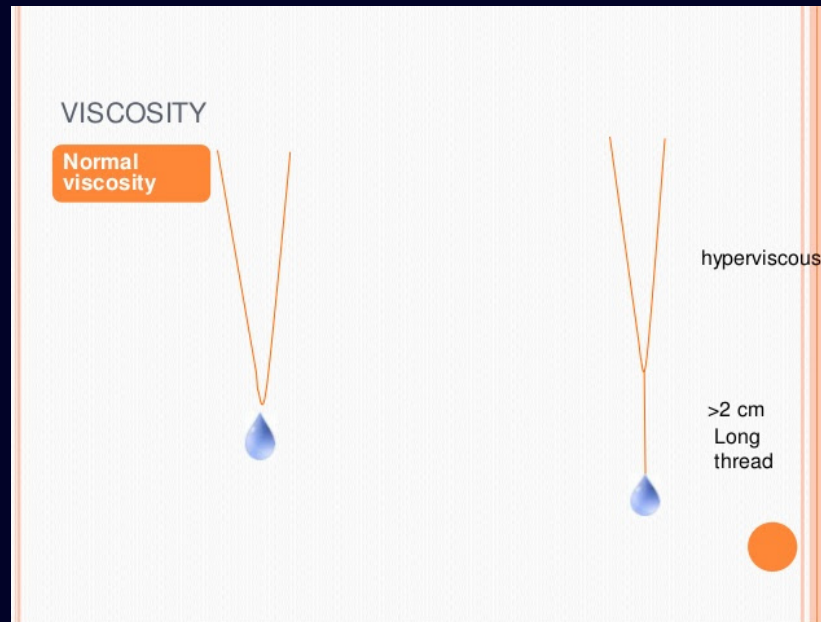
Στρογγυλά κύτταρα

# Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά

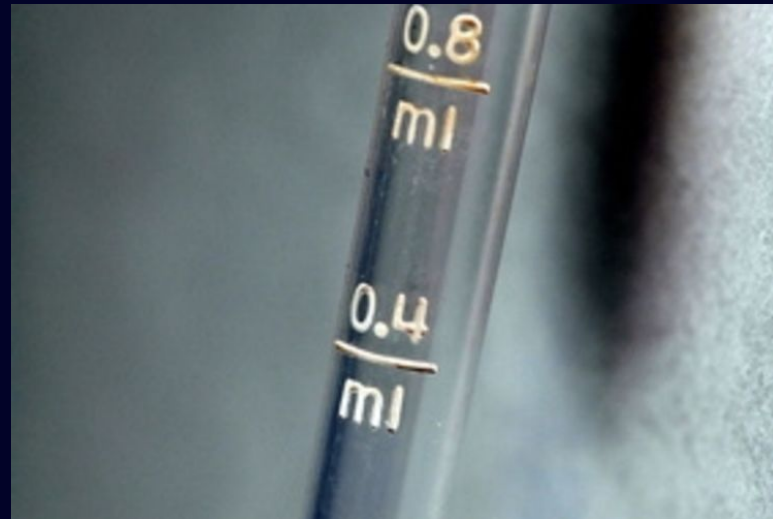
- Πως καταγράφονται  
Φ ή ΜΦ
- Πως εκτιμώνται



# 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

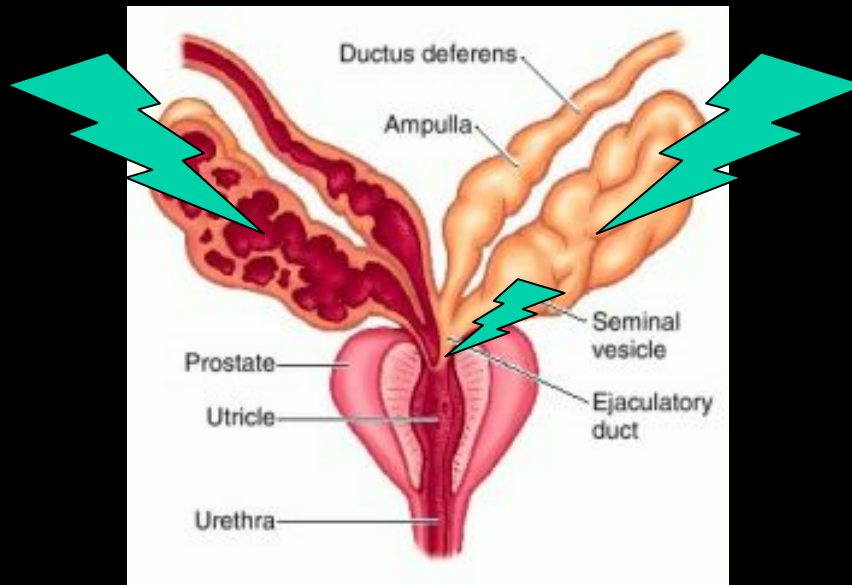
# Όγκος

Μικρός όγκος σπέρματος - μη οργανικά αίτια

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

# Όγκος

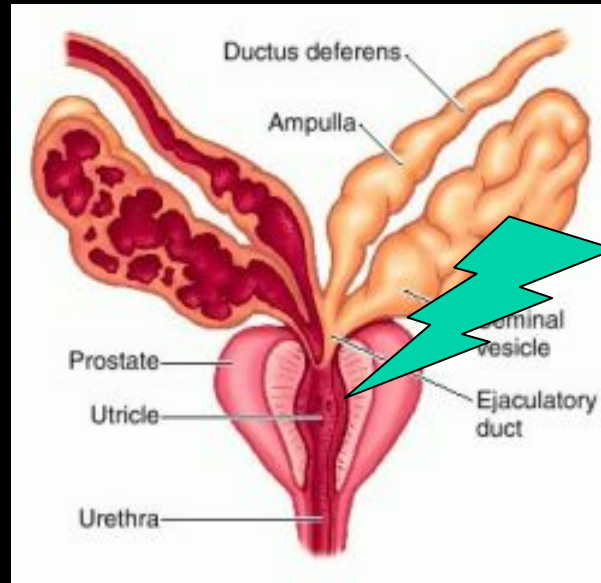
Υποσπερμία με  $\text{pH} < 7.2$



– 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 ( $\alpha, \beta$ -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<sup>ο</sup> 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

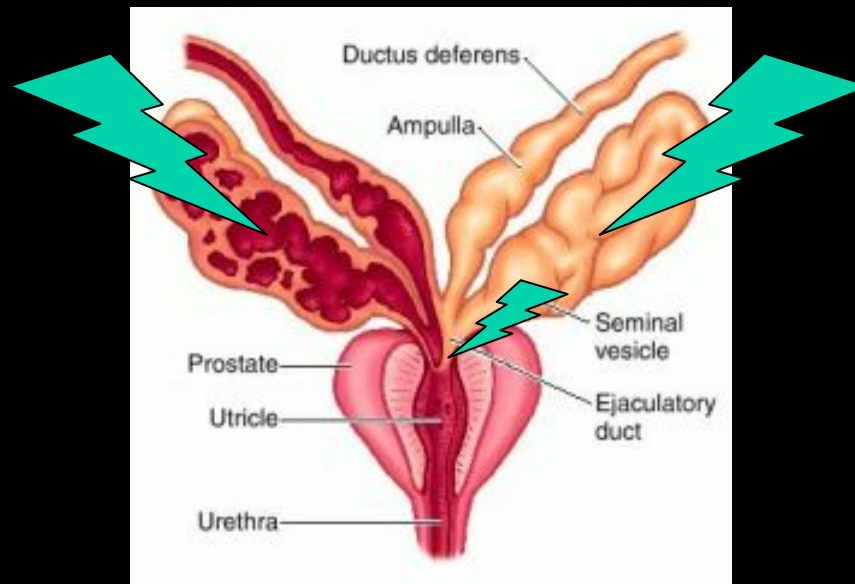
Όγκος	2 ml
pH	8.2
Ρευστοποίηση	MΦ > (60min)
Ημέρες αποχής	2

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

Κινητικότητα	38 %
Μορφολογία	4 % φυσιολογικά

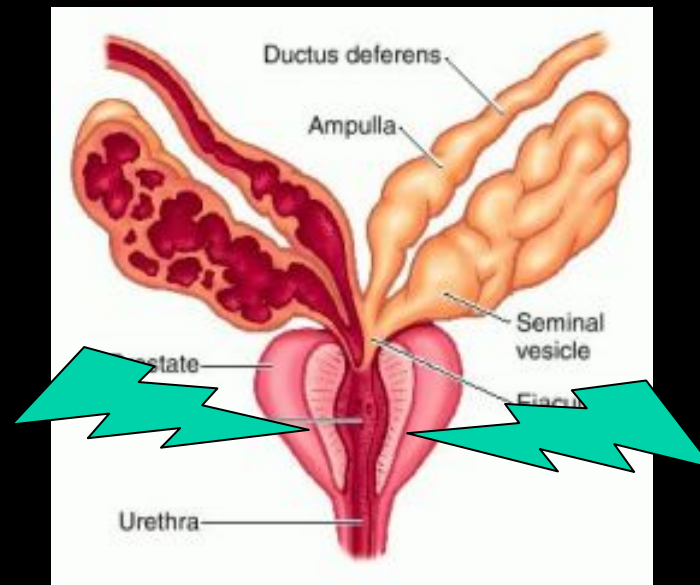
# Πήξη - Ρευστοποίηση

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



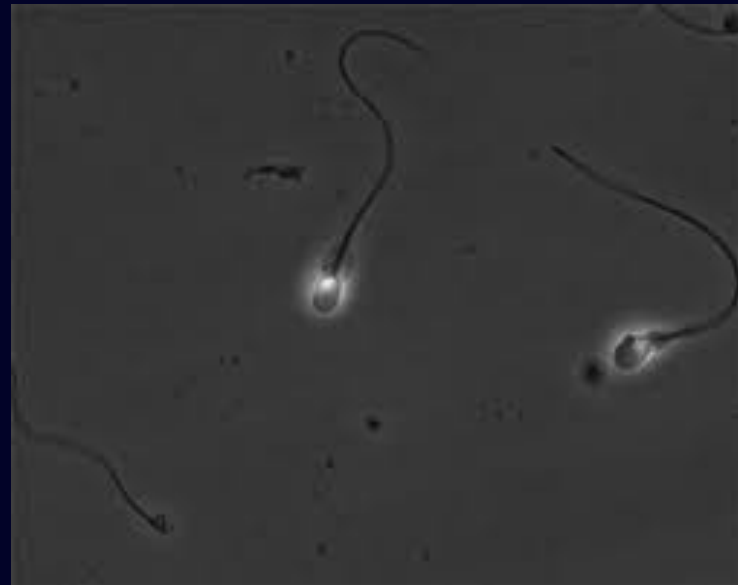
# Πήξη - Ρευστοποίηση

- Καθυστερημένη ρευστοποίηση
  - Εκκριτική δυσλειτουργία προστάτη (πχ προστατίτιδα)



# Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά

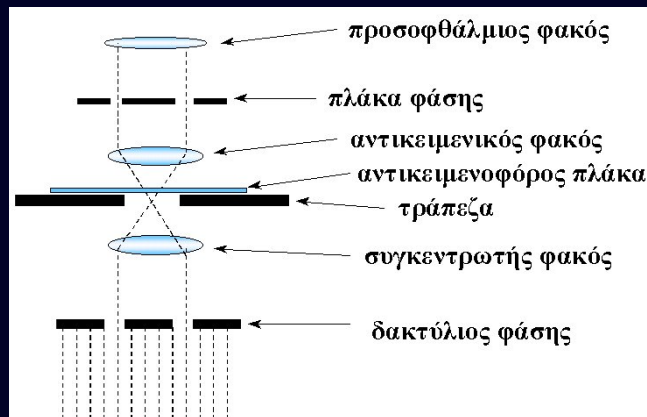
- Πως καταγράφονται  
...με αριθμούς
- Πως εκτιμώνται





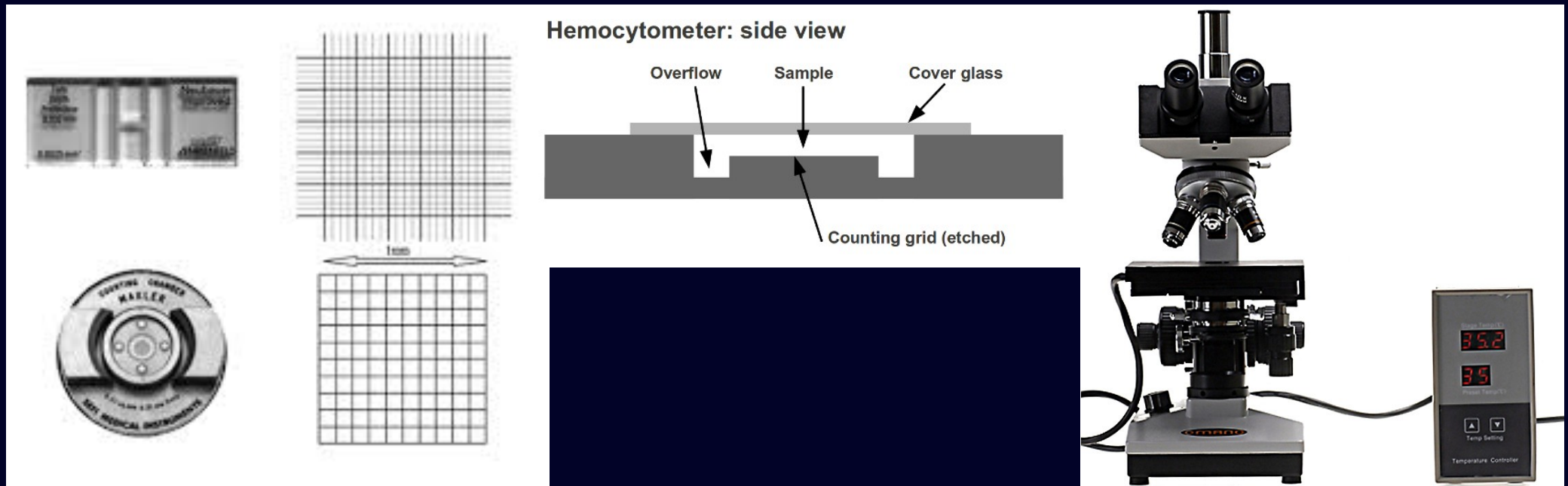
# Το μικροσκόπιο

- Είδος
- Φακοί
- Συνθήκες λειτουργίας

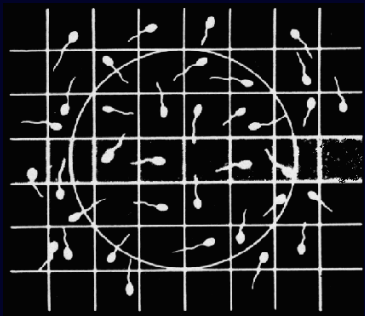
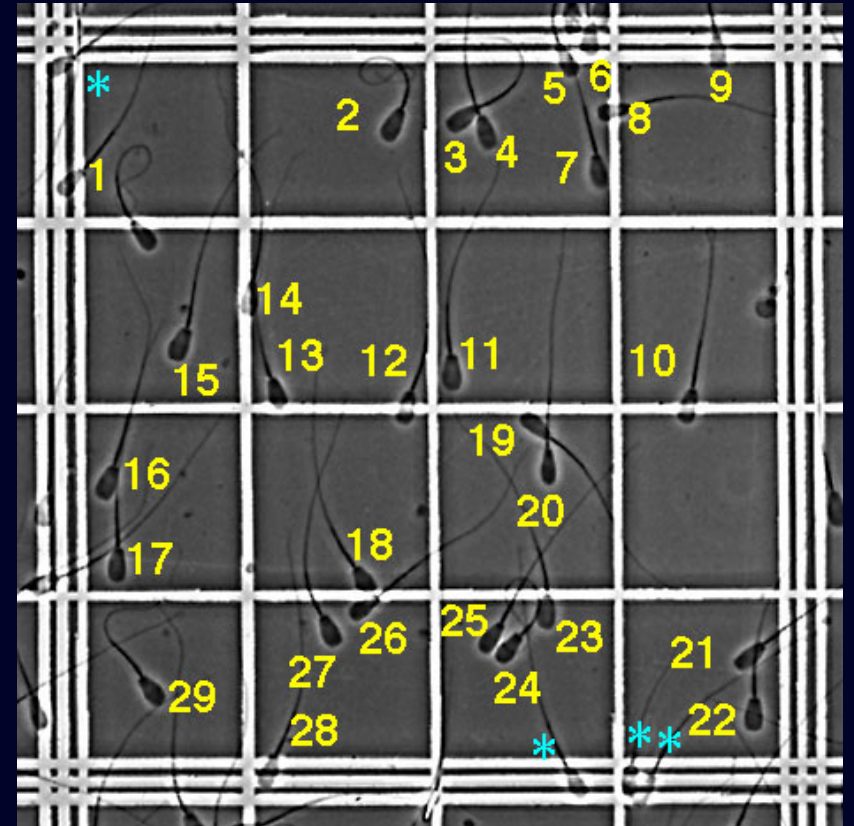
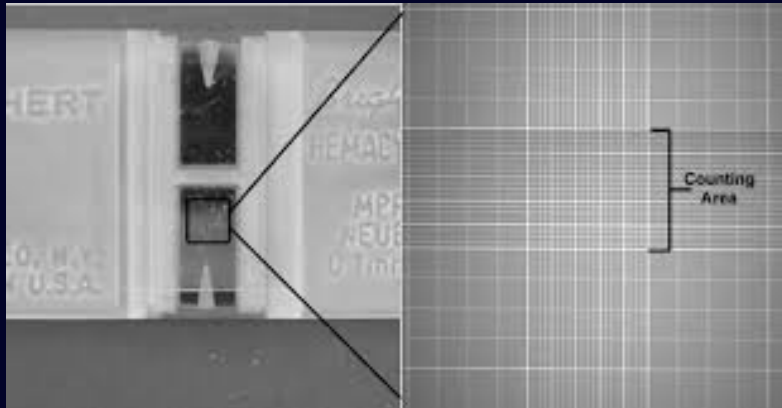


# Επιφάνεια παρατήρησης και μέτρησης

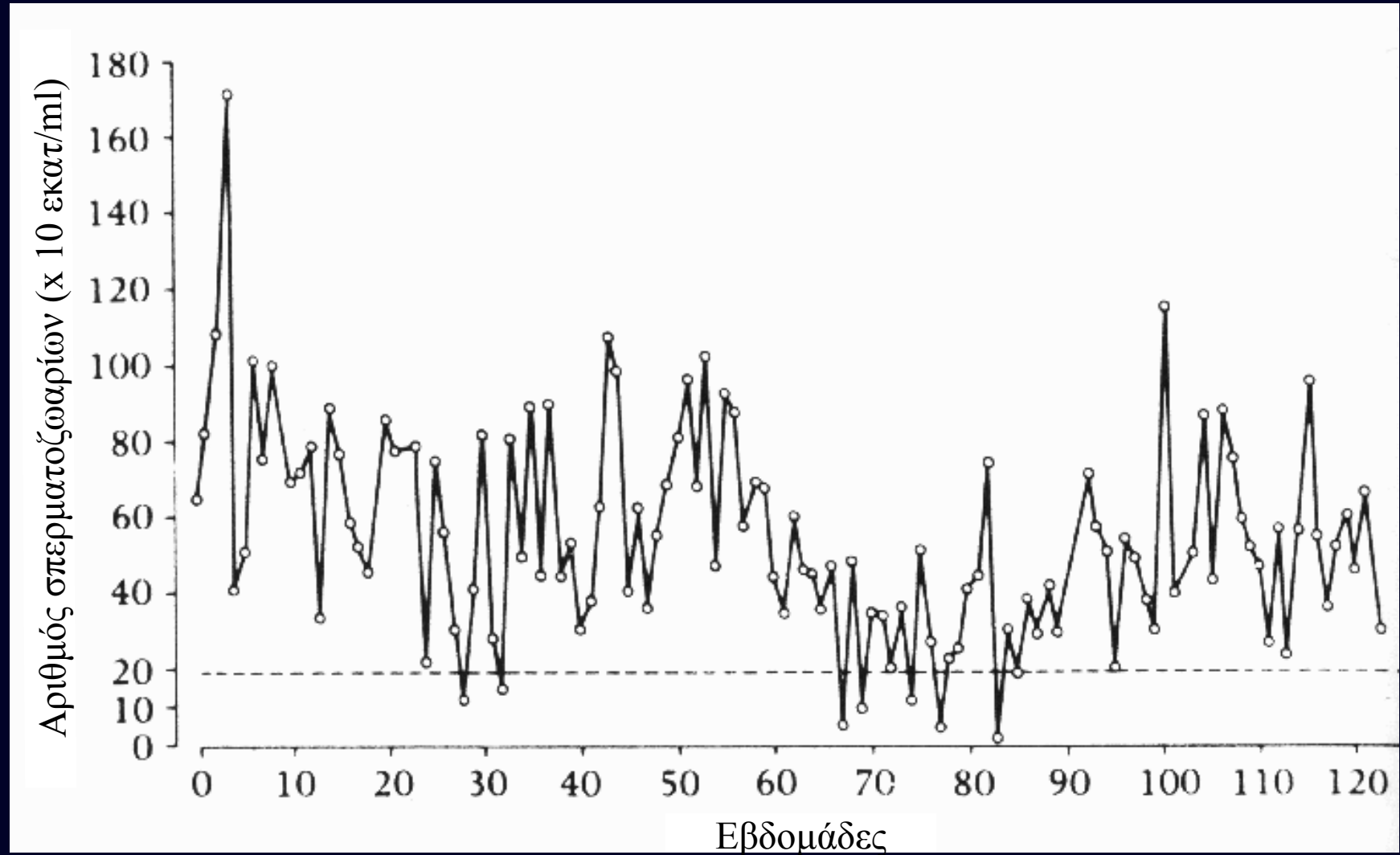
- Είδος
- Συνθήκες/χρησιμότητα



# 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

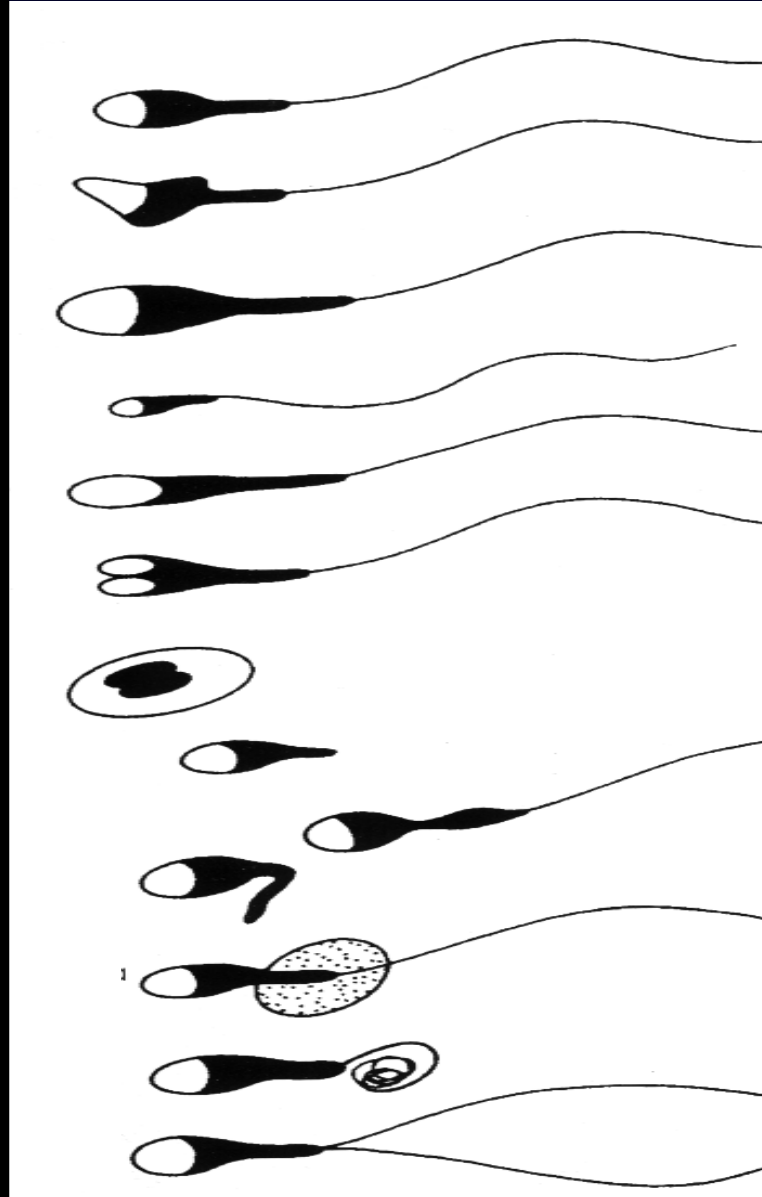
Δίχως ουρά

Ανωμαλίες μέσου τμήματος

Κυτ/τικά κενοτόπια

Ελικοειδής ουρά

Πολλαπλή ουρά



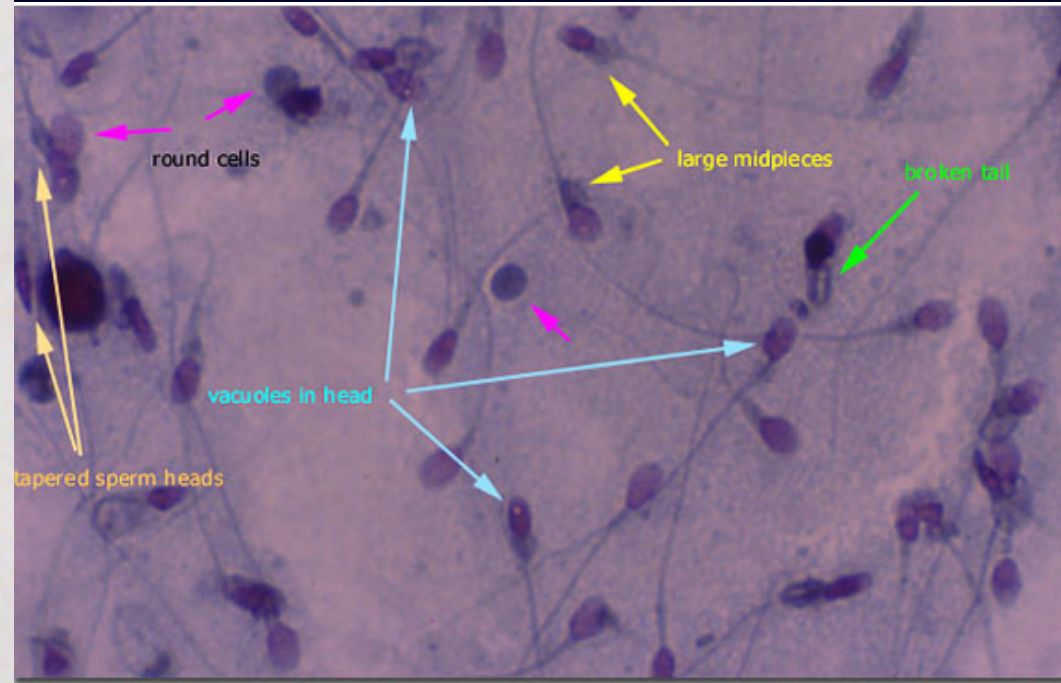
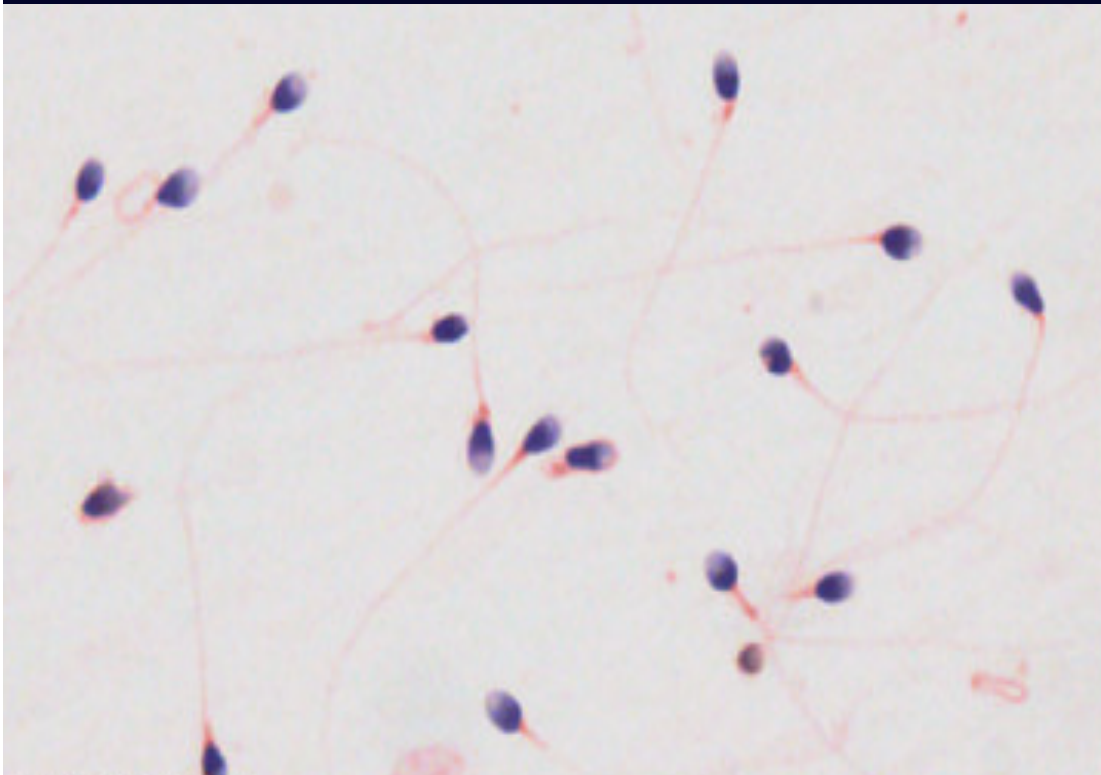
Πολλαπλές ανωμαλίες



# Μορφολογία σπερματοζωαρίων

Teratozoospermia index

Συν. αριθμός ανωμαλιών/No των ανώμαλης μορφολογίας σπερματοζωαρίων



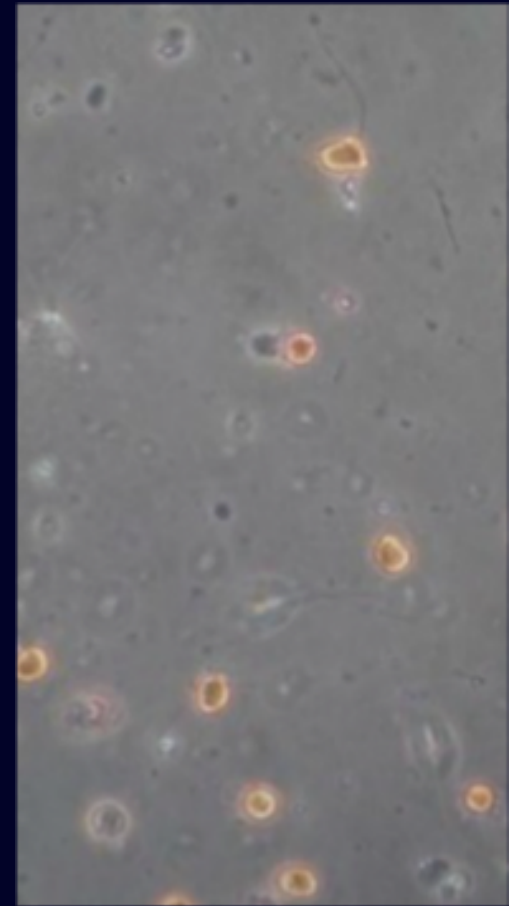
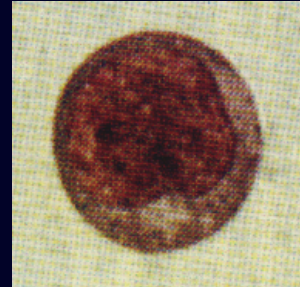
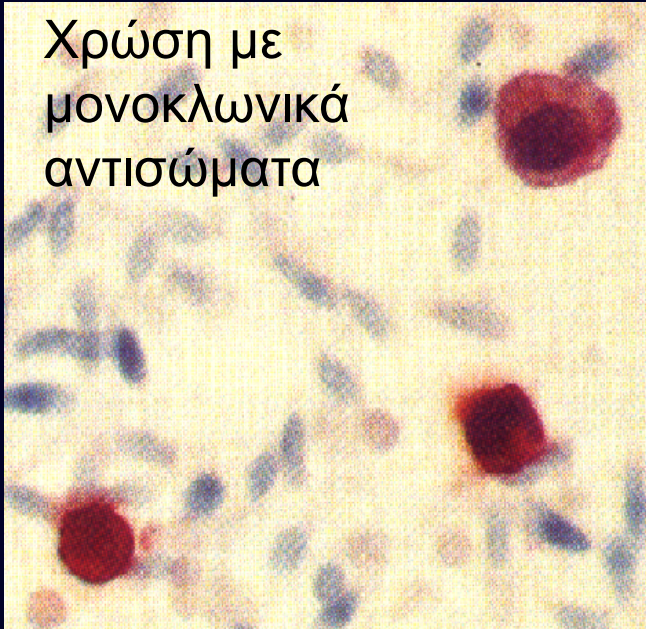
Χρώση Παπανικολάου VS Διαφορετικών ειδών χρώσης



# 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

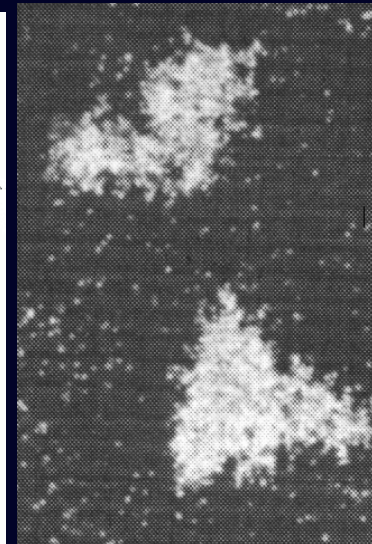
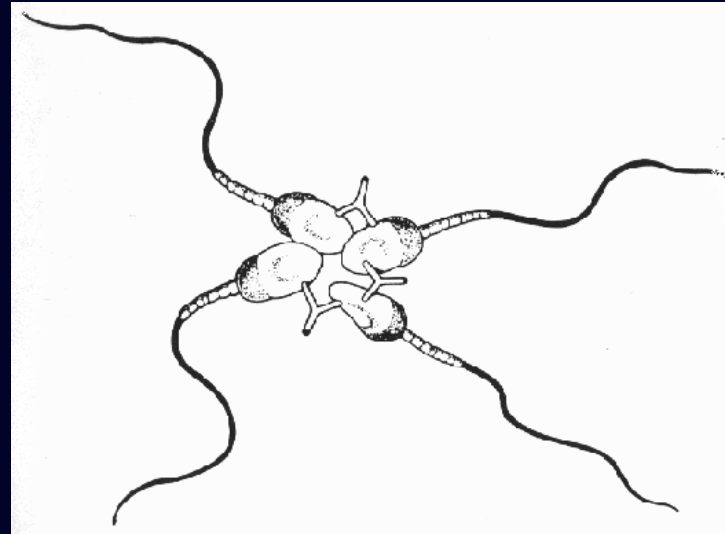
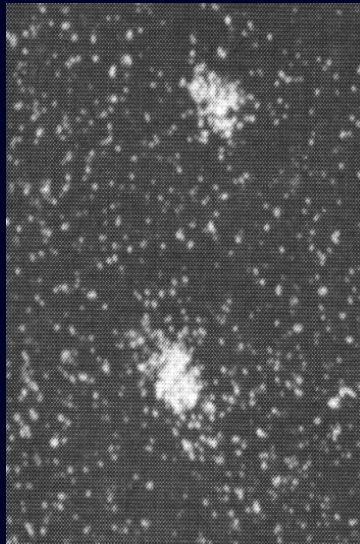
Μορφολογία > 4 % φυσιολογικά \*

Ζωτικότητα > 75 % ζωντανά

Λευκοκύτταρα < 1 εκατομμύριο/ ml

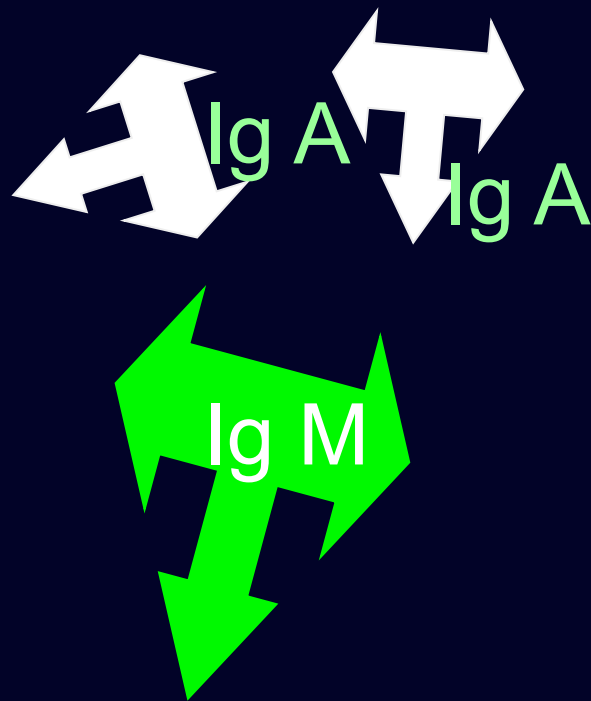
Έλεγχος αντισωμάτων < 50 % κινουμένων να αντιδρούν θετικά

Συγκόλληση σπερματοζωαρίων  
VS  
Συσωματώματα σπερματοζωαρίων



# Βασικές εξετάσεις

## Έλεγχος αντισπερματικών αντισωμάτων



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

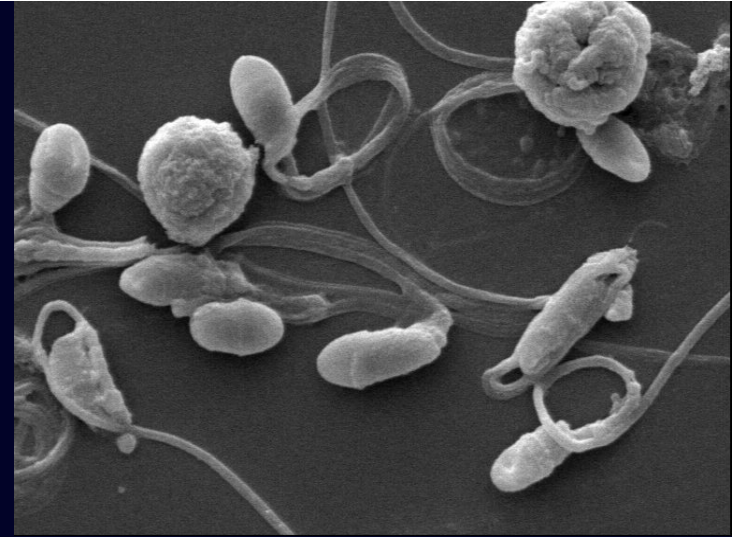
- **ImmunoBead Test**  
(σφαιρίδια πολυακρυλαμίδης με ανοσοσφαιρίνες)

*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  $< 40\%$





# 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**

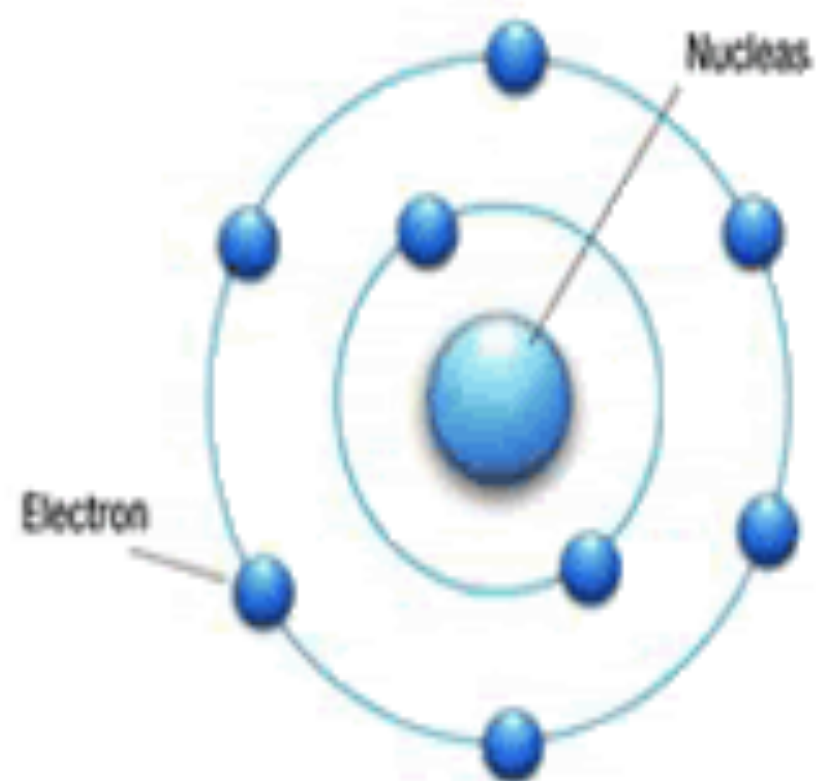
(Devillard, Metzler-Guillemain et al. 2002; Martin, Rademaker et al. 2003).

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

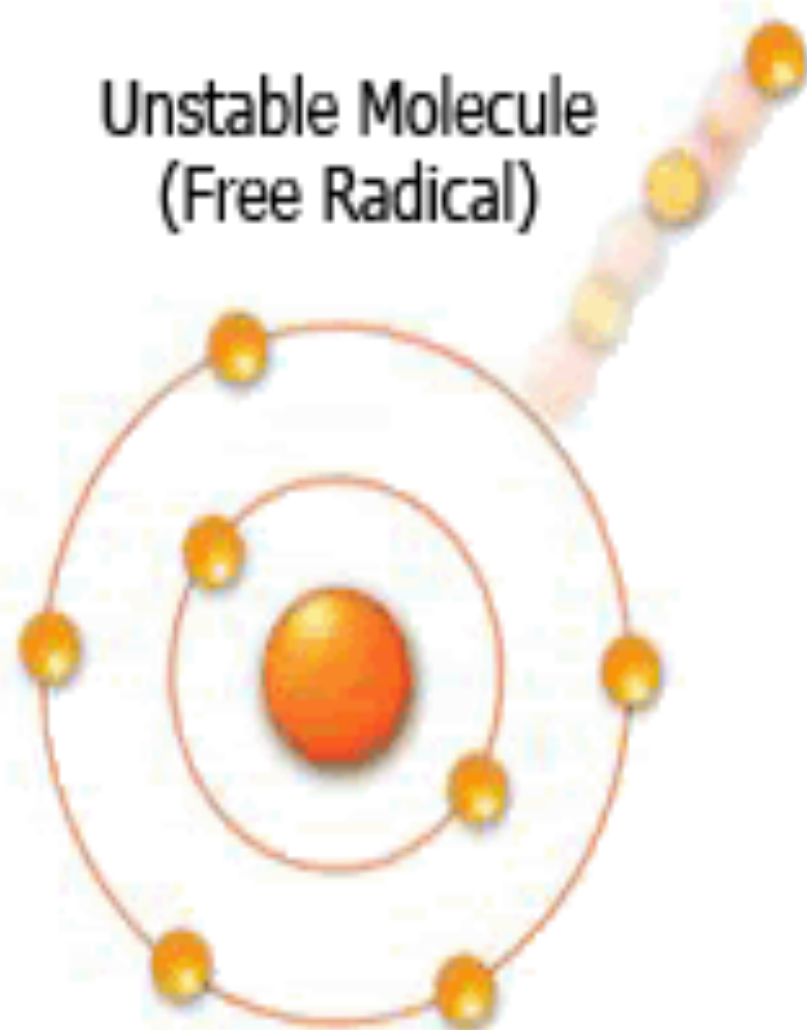
Όγκος	3 ml	
pH	8.1	
Ημέρες αποχής	3	
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων	30	εκατομμύρια/ ml
Συνολικός αρ. Σπερματοζωαρίων	90	εκατομμύρια
Κινητικότητα	40 %	
Γρήγορη προωθητική	2%	
Αργή προωθητική	18%	
Μη προωθητική	20%	
Ακίνητα	60%	
Μορφολογία	4 % φυσιολογικά	
Κεφαλής	15	
Μεσαίου τμήματος	35	
Ουράς	5	
Κυτταροπλασματικές κηλ.	5	
Πολλαπλές ανωμαλίες	15	
Ζωντανά	>75%	
Λευκοκύτταρα	7 εκατομμύριο/ ml	

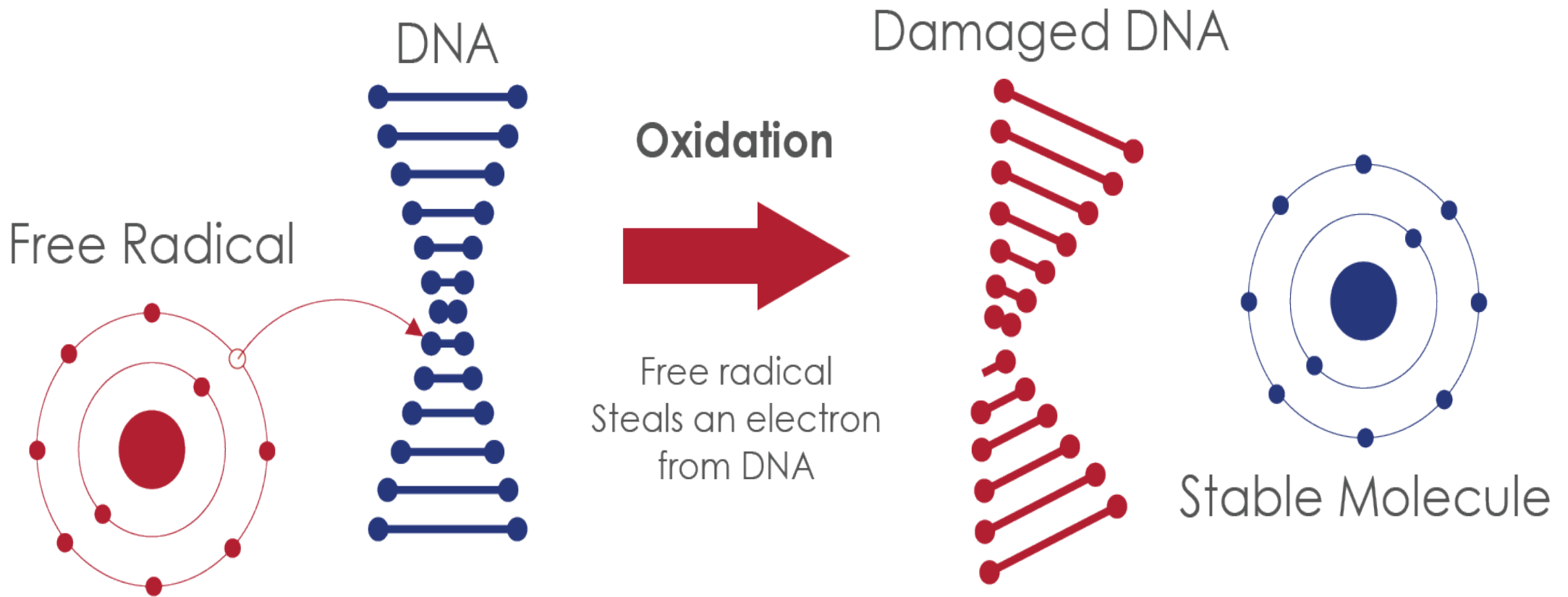
- θετική συσχέτιση μεταξύ λευκών και συνολικού αριθμού μικροοργανισμών στο σπέρμα
- Η πληθώρα λευκών δρα αρνητικά στα σπερματοζωάρια λόγω:
  - Μεγάλης παραγωγής ROS και κυτταροτοξικών κυτοκινών
  - αυξημένου sperm DNA fragmentation
  - Μειωμένη δεισδητικής ικανότητας των σπερματοζωαρίων

Stable Molecule



Unstable Molecule  
(Free Radical)

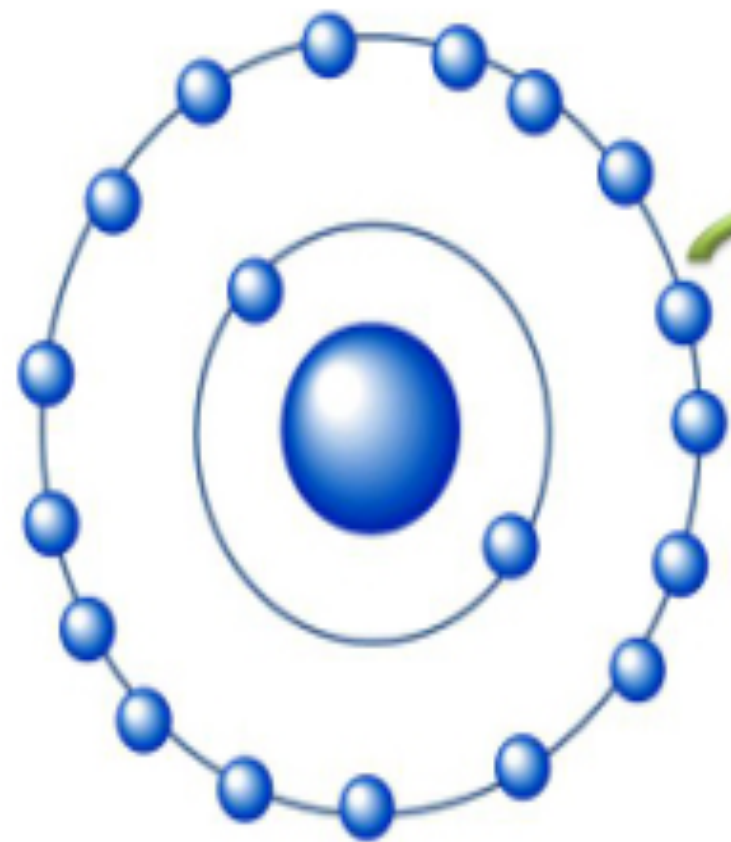




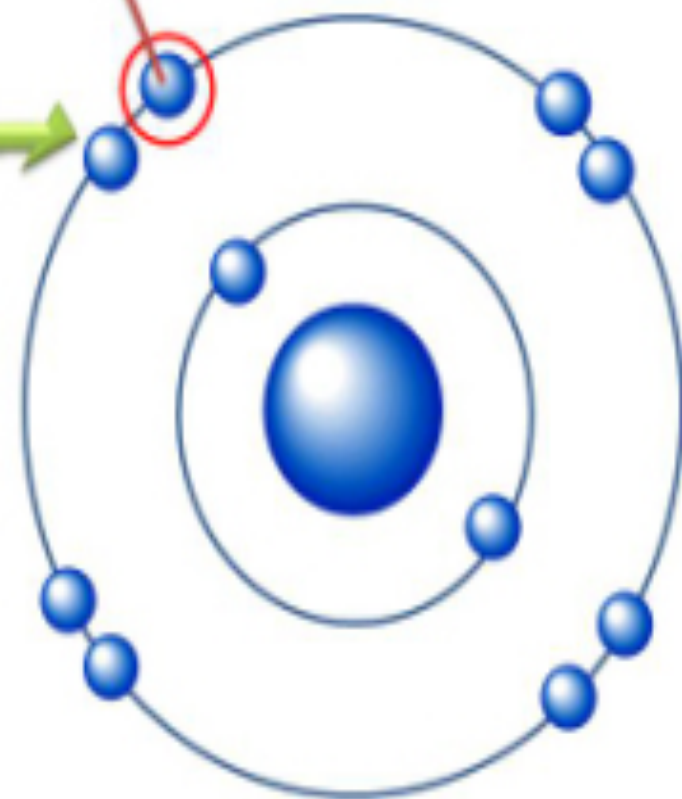


**Antioxidant**

**Unpaired Electron**



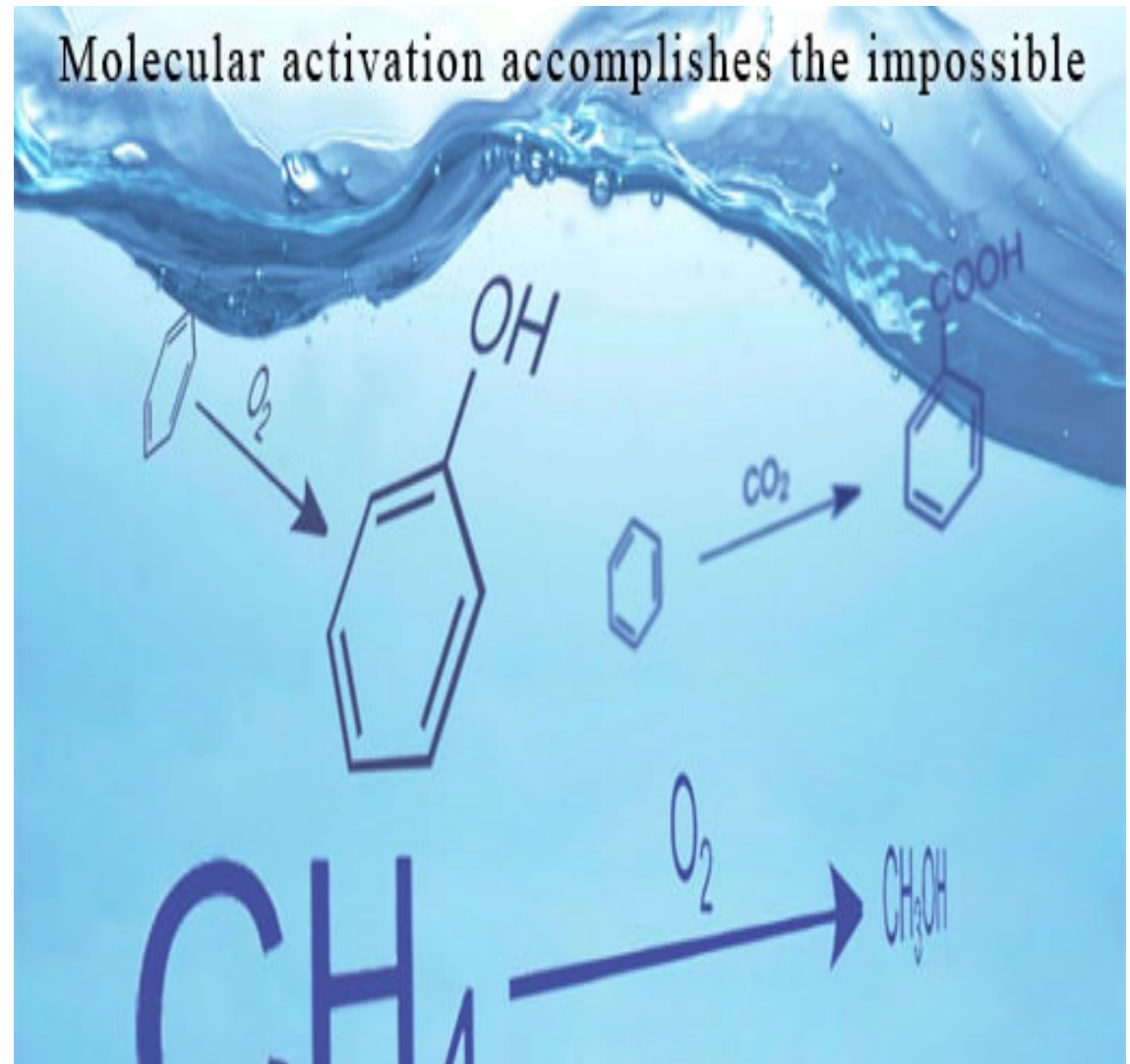
**Electron  
Donation**



**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 ενδορχική 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