

## **SPERMIOGRAMMA**

L'esame standard del liquido seminale, detto spermioγραμμα, è l'esame di base nella valutazione clinica della coppia infertile e rappresenta il punto di partenza per un'eventuale trattamento con tecniche di PMA.

I parametri che determinano la qualità del seme forniscono informazioni sulla produzione di spermatozoi da parte dei testicoli, sulla pervietà e sulla funzionalità dell'apparato riproduttore maschile, sull'attività delle ghiandole accessorie e sulla capacità di eiaculare.

Benchè l'analisi dello sperma non permetta una distinzione clinica tra pazienti fertili ed infertili, tuttavia, quando diminuisce la qualità del liquido seminale, diminuiscono in senso statistico le probabilità di concepimento.

Per una corretta esecuzione laboratoristica dell'esame è fondamentale la standardizzazione dell'analisi: da alcuni anni viene considerato come linea guida il manuale WHO (*WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen*, 2010).

## **RACCOLTA CAMPIONE**

Il campione iniziale deve essere raccolto tramite masturbazione dopo un periodo di astinenza sessuale di un tempo minimo di 2 giorni ad un massimo di 5.

Rispettare il periodo di astinenza sessuale permette di paragonare i dati seminali a valori standard di normalità. Inoltre, un'astinenza troppo prolungata provoca accumulo di spermatozoi con possibile riduzione della motilità e alterazione della morfologia, mentre un'astinenza troppo breve o eiaculazioni frequenti nel periodo precedente la raccolta possono causare la riduzione del volume dell'eiaculato e del numero degli spermatozoi.

La raccolta tramite coito interrotto non è una modalità idonea in quanto si può verificare la perdita della prima frazione dell'eiaculato, che di solito contiene la più alta concentrazione di spermatozoi e può comportare una contaminazione del liquido seminale con secrezioni vaginali che possono interferire sulla motilità degli spermatozoi.

Essendo il campione molto sensibile a sbalzi di temperatura, è importante una volta compiuta la raccolta evitare escursioni termiche durante il trasporto del campione in laboratorio.

Condizioni febbrili di origine virale o batterica, terapie con farmaci, l'assunzione di anabolizzanti per uso "sportivo" e molti altri eventi patologici o terapeutici, possono interferire sulla qualità del campione seminale.

La valutazione della qualità dell'eiaculato prevede l'analisi di diversi parametri, alcuni valutabili macroscopicamente e altri valutabili al microscopio.

L'esame macroscopico prevede l'analisi di cinque parametri: aspetto, fluidificazione, viscosità, volume e pH; mentre all'esame microscopico vengono valutati: la concentrazione nemaspermatica, la motilità, la morfologia, eventuale presenza di agglutinazioni, la vitalità e la presenza di cellule non spermatiche.

Consideriamo di seguito più dettagliatamente ciascun parametro:

### **ASPETTO**

Il liquido seminale presenta visivamente un aspetto opaco e di colore bianco-grigiastro. Un'eventuale trasparenza del campione indica generalmente riduzione della componente nemaspermica, mentre un aspetto di colore giallastro o rossastro indicano, rispettivamente, un'elevata concentrazione di leucociti o emazie spesso entrambi segno di flogosi o infezione delle vie seminali.

Un campione seminale lattescente indica la presenza di una forte componente prostatica, tale aspetto è tipico nel caso di ostruzione delle vie genitali.

### **FLUIDIFICAZIONE**

La fluidificazione del liquido seminale segue l'iniziale coagulazione. Se dopo 60 minuti la fluidificazione non è completa, si parla di fluidificazione ritardata, quadro compatibile con disturbi prostatici. La misurazione viene effettuata facendo percolare il liquido lungo le pareti della provetta osservando la qualità del liquido contro una sorgente luminosa.

### **VISCOSITA'**

La misurazione della viscosità avviene facendo gocciolare il liquido da una pipetta, osservando come le gocce dovrebbero susseguirsi in maniera ritmica una dopo l'altra. Una diminuzione della viscosità può associarsi a scarsa componente cellulare spermatica; mentre l'aumento della viscosità visibile con la formazione di filamenti può derivare da uno stato di flogosi o da una patologia prostatica o delle vescichette seminali e può causare difficoltà al movimento degli spermatozoi, tanto da non consentire il raggiungimento del canale cervicale.

## **VOLUME**

L'analisi del volume permette la valutazione della funzionalità delle ghiandole accessorie e della pervietà delle vie genitali. È considerato normale nell'intervallo compreso tra 2 e 5 ml; le alterazioni del volume del liquido seminale possono essere caratterizzate dalla completa assenza di liquido seminale o dalla riduzione o aumento della sua quantità.

La condizione di completa assenza di fluido seminale si indica con il termine di “aspermia”; questo fenomeno può essere conseguente ad eiaculazione retrograda o a mancata fase di emissione del liquido seminale in uretra. Con il termine di “ipoposia” si intende la condizione in cui si ha un volume inferiore ai 2 ml; tale alterazione può essere dovuta ad una ridotta astensione dai rapporti sessuali o eiaculazioni, ad una raccolta seminale incompleta o a flogosi prostatico-vescicolari.

Infine, nel caso in cui si abbia un aumento di volume (sopra ai 6 ml) si parla di “iperposia” e tale condizione può essere dovuta ad astinenza prolungata o alla presenza di flogosi prostatico-vescicolari.

## **PH**

Il pH seminale è alcalino, con valori di normalità compresi tra 7,2 e 7,8. Valori superiori a 8 possono indicare patologie flogistiche mentre, variazioni nel senso opposto, con valori inferiori a 7, possono associarsi a patologie ostruttive dei dotti eiaculatori, a ipotrofie congenite o acquisite delle vescicole seminali.

La seconda parte dell'analisi consiste nella valutazione dei parametri microscopici.

## **CONCENTRAZIONE NEMASPERMICA**

La determinazione della concentrazione spermatica, espressa in milioni di spermatozoi per millilitro di seme, e il conteggio spermatico totale, espresso in milioni di spermatozoi per eiaculato, sono parametri importanti per valutare gli aspetti quantitativi della spermatogenesi. Oggi la normospermia si ottiene con un numero di spermatozoi  $> 15 \times 10^6$  ml e un numero di spermatozoi totali  $> 39 \times 10^6$ . Si definiscono le seguenti condizioni patologiche: “oligozospemia” quando il numero degli spermatozoi è  $< 15 \times 10^6$ /ml, “azoospermia” quando si ha totale assenza di spermatozoi nell'eiaculato, “criptozospermia” per campioni con una concentrazione  $< 1 \times 10^6$ /ml e “poliozospemia” quando il numero degli spermatozoi è  $> 250 \times 10^6$ /ml.

## **MOTILITA'**

La motilità viene determinata mediante microscopio ottico ad ingrandimento 20 X su diversi campi selezionati casualmente contando solo quegli spermatozoi che si trovano nel campo in un dato momento. E' largamente diffuso l'uso della camera di Makler (Sefi Medical instruments, Haifa, Israel).

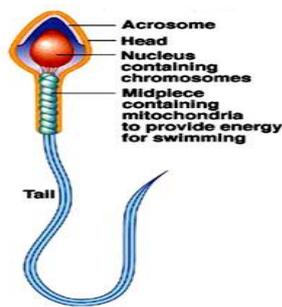
Esistono numerosi criteri di valutazione della motilità degli spermatozoi: i criteri delle linee guida WHO prevedono una valutazione di tipo qualitativo e di tipo quantitativo.

Nell'ultima versione gli spermatozoi vengono valutati secondo tre classi: motilità progressiva, non progressiva e spermatozoi immobili; da punto di vista quantitativo viene considerato normale un campione seminale con spermatozoi dotati di motilità progressiva in una percentuale  $> 32\%$  oppure quando la percentuale degli spermatozoi dotati di motilità progressiva + quelli dotati di motilità non progressiva risulta  $>40\%$ .

## **MORFOLOGIA**

La morfologia è un'altro interessante aspetto dello spermioγραμμα in quanto è uno dei parametri che meglio riflette la maturità e la capacità funzionale degli spermatozoi.

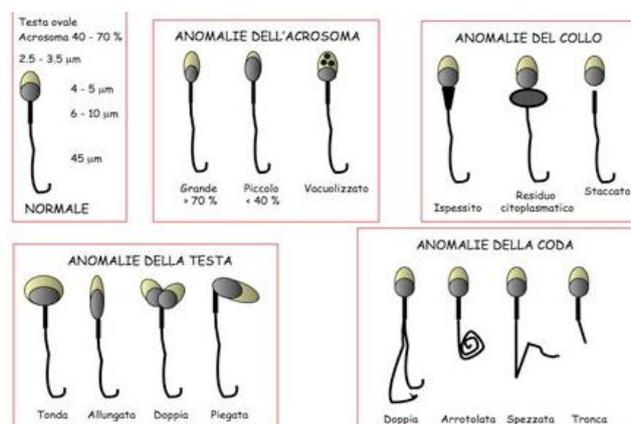
Lo spermatozoo maturo è costituito da una parte anteriore ovoidale detta "testa", seguita da un sottile flagello detto "coda" diviso in un tratto intermedio, principale e finale. Ad unione delle due porzioni vi è una struttura detta "collo". La testa è principalmente occupata dal nucleo che nella sua parte anteriore presenta una vescicola detta "acrosoma" la quale contiene gli enzimi necessari alla penetrazione della zona pellucida dell'ovocita. Sebbene sia possibile effettuare una prima grossolana valutazione della morfologia per un'analisi più accurata delle possibili anomalie è necessario compiere una colorazione del campione opportunamente preparato su vetrino.



Viene valutata entro 1 ora dall'ejaculazione, preferibilmente dopo mezzora dalla raccolta. Si valuta generalmente a fresco generalmente su un vetrino con coprioggetto da 22x22. Il preparato così ottenuto viene esaminato con ottica in contrasto di fase a 200x o 400x ingrandimenti e si contano 200 spermatozoi intatti (non contare code mobili senza la testa).

I difetti che lo spermatozoo può presentare vengono così classificati:

- difetti della testa
- difetti del collo e del tratto intermedio
- difetti della coda

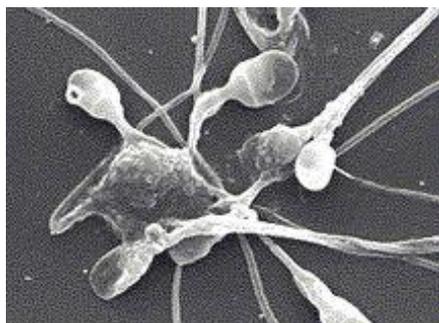


## ZONE DI AGGLUTINAZIONE

Si definiscono agglutinazioni specifiche quelle in cui gli spermatozoi mobili aderiscono tra di loro, testa-testa, coda-coda o in forma mista.

La presenza di agglutinazioni non è sufficiente per dedurre una causa immunologica di infertilità, ma è suggestiva della presenza di anticorpi antispermatozoo.

Il test utilizzato è il MAR test o Immunobead che risulta patologico quando più del 50% degli spermatozoi presenta particelle adese alla testa, al collo, o alla coda.



## **VITALITA'**

La vitalità degli spermatozoi è definita dalla percentuale di cellule vive, valutata in laboratorio con un colorazione specifica. La percentuale di spermatozoi vitali viene valutata identificando quelli con membrana cellulare intatta, e cioè si valuta la loro capacità di non accettare sostanze dall'esterno. La valutazione va effettuata preferibilmente entro 30 minuti. La sostanza usata è l'eosina che va mescolata con uguale volume di liquido seminale; si distinguono le forme vive da quelle morte, osservando, in un campo, quanti spermatozoi risultano colorati di rosso (spermatozoi morti) e quanti di bianco (spermatozoi vivi).

Le linee guida del WHO ritengono opportuno effettuare la valutazione della vitalità per campioni con meno del 40% di motilità progressiva. La presenza di un'ampia percentuale di spermatozoi vitali ma immobili può essere indicativa di alterazioni strutturali del flagello.

## **Bibliografia**

World Health Organization (2010) WHO Laboratory Manual for the Examination and processing of human semen. FIFTH EDITION. Cambridge University Press, Cambridge.