

Spermaanalys i inledningen av barnlöshetsutredning

Syftet med den första spermaanalysen i samband med en barnlöshetsutredning är att få en översiktlig bedömning av den enskilde mannens fortplantningsfunktioner för att kunna inrikta den fortsatta utredningen och val av behandlingsform. Ett kvantitativt mått på spermieproduktionen är spermieantalet. Det mest basala spermiefunktionsmättet utgörs av progressiv rörlighet.

Spermimorfologi avspeglar främst hur väl spermiebildningen fungerar i testikeln. De så kallade "Tygerberg strict criteria" för spermimorfologi avser den morfologi som är typisk för spermier som passerat genom cervixsekret och kunnat binda till zona pellucida (Menkveld, et al., 1990, Mortimer and Menkveld, 2001, World Health Organization, 2010). "Äldre" WHO rekommendationer (före 1992) för morfologisk bedömning byggde på observationer i mikroskop och med utgångspunkt från detta på att antal definierade morfologiska avvikelser (MacLeod and Gold, 1951). Det finns varken direkt koppling mellan dessa avvikelser och specifika testikelskador eller infertilitet. Biokemiska analyser belyser sekretorisk funktion i prostata, sädesblåsor och bitestiklar. Inflammatoriska celler och spermieantikroppar kan utgöra indikatorer för aktuella och tidigare inflammatoriska processer (Björndahl, et al., 2010).

Fysiologiska och tekniska orsaker till variation

Intra- och interindividuella variationer mellan olika ejakulat kan vara stora utan att det beror på patologiska förhållanden (World Health Organization, 2010). Ejakulatets innehåll beror på effektiviteten i rekryteringen av spermier från bitestikeln, transporten genom sädesledare samt på den sekretoriska aktiviteten i prostata och sädesblåsor. Alla dessa processer styrs av aktiviteten i det autonoma nervsystemet. Även tiden mellan ejakulationerna (abstinenstiden) spelar roll. Med moderna laboriemetoder och målinriktad träning kan en tillfredsställande kvalitet och jämförbarhet i analysresultat erhållas (Björndahl, et al., 2010). Det främsta problemet är idag i vilken omfattning lokala laborier anammat sådana metoder och utbildningsprogram samt i vilken omfattning laborierna deltar i externa kvalitetssäkringsprogram (Riddell, et al., 2005). Utan standardiserade metoder med intern och extern kvalitetskontroll varierar hanteringen av spermaprov mellan laborier och analyserna kan göras med betydande och okontrollerade subjektiva inslag.

Spermaprovet är inte en homeostatiskt välkontrollerad kroppsvätska som är en homogen representant för ett tillstånd i kroppen. Det välblandade spermaprovet finns egentligen bara i laboratoriets provtagningskärl. Här bildar proteiner från sädesblåsorna ett koagel som även fångar in prostatasekretet och spermier. Av laborietekniska skäl kan därför inte analysen inledas förrän koaglet lösts upp (likvifierat), d.v.s. när enzymer från prostatasekretet har brutit ner koagelproteinerna till små molekylfragment. Under denna process ökar osmolariteten kraftigt, vilket

kan ha betydelse när spermier senare överförs till medier som är isotona i förhållande till kroppsvätskor.

Det finns inga vetenskapliga belägg för att alla spermier som töms ut i slidan vid samlag utsätts för en liknande process som det som sker i laboratoriets provtagningskärl. Tvärtom finns det anledning att anta att ejakulatets första, spermierika fraktioner med stor sannolikhet får direktkontakt med cervixsekretet (Macleod, 1956, Björndahl and Kvist, 2003). Detta möjliggör för spermier med bäst rörlighet, överlevnad och skydd av arvsmassan att, utan betydande kontakt med sädesblåsesekretet, påbörja förflyttningen till ägget.

Störd ejakulationssekvens

En störd ejakulationssekvens, dvs när spermier inte töms med prostatasekretet utan uppblandade i huvudsakligen med sädesblåsesekretet kan utgöra en fertilitetssänkande faktor. Spermier som ejakulerats i en sådan miljö visar sämre rörlighet och nedsatt överlevnad och har minskat innehåll av zink i kärnan. Ett minskat zinkinnehåll i spermiekärnan innebär att kromatinets strukturella stabilitet är förändrad och skulle kunna innebära en ökad risk för spermiers DNA att skadas (Richthoff, et al., 2002, Barratt, et al., 2010, Björndahl and Kvist, 2010). I ett vanligt spermiprov ses en störd ejakulationssekvens främst som nedsatt spermierörlighet. Den onormala sekvensen kan bara upptäckas genom att undersöka s.k. split-ejakulat (Björndahl and Kvist, 2003). En möjlig orsak till tillståndet kan vara post-inflammatoriska förändringar i prostata som lett till EDO (Ejaculatory Duct Obstruction)(Dohle, 2003).

Användning av referensområden vid bedömning av spermaanalysresultat

För tolkningen av laboratorieanalyser är referensområden som skiljer "normala" från "patologiska" värden till stor hjälp (Cooper, et al., 2010). När det gäller spermaanalys finns dock inga entydiga gränser mellan dessa kategorier. Överlappning mellan resultat från fertila män respektive män med nedsatt fertilitet är betydande. Av den anledningen är frekvensfördelningar över resultat från enbart fertila män av mycket begränsat – om ens något – värde (Björndahl, et al., 2010).

Eftersom spermaanalys utförs av olika anledningar, i olika skeden av utredningar och behandlingar, kan det behövas flera olika referensområden såsom (1) primär barnlöshetsutredning, (2) utvärdering av infektions/inflammations/antikroppsbehandling; (3) utvärdering av endokrin substitutionsbehandling; (4) utvärdering av vasektomi; (5) utbyte av spermiepreparation

Prognostiskt värde av spermaanalysresultat

Enstaka analysparametrar ger begränsad vägledning inför val av behandlingsstrategi även om många studier visat på samband mellan spermparametrar och graviditeter. Bästa hjälp har spermierörlighet respektive morfologi visats ha (Sripada, et al., 2010), men för det enskilda paret är det prediktiva

värdet för dessa enskilda parametrar alltför dåligt för att ligga till grund för ett mått på parets fertilitet. Däremot ger sammanvägning av flera parametrar, till exempel spermiekoncentration, rörlighet och morfologi bättre vägledning för såväl spontana graviditet som graviditet efter assisterad befruktning (Guzick, et al., 2001, Jedrzejczak, et al., 2008). Avsaknad av snabbt progressivt rörliga är dock en starkt negativ faktor inför standard-IVF-behandling och ICSI kan då vara det bästa behandlingsalternativet (Verheyen, et al., 1999, Sifer, et al., 2005).

Den allmänna rekommendationen [stark rekommendation – evidens saknas i strikt mening] är därför att inte basera ett kliniskt ställningstagande (inriktning för fortsatt utredning eller val av behandlingsform) på en enstaka spermaanalysparameter utan att beakta flera parametrar. Givetvis ska kliniska ställningstaganden inte heller enbart baseras på laboratorieresultat; anamnes, status och övriga undersökningsresultat ska naturligtvis också ingå som grund för kliniska beslut.

Ett spermaprov med avvikelser bör upprepas, helst efter det att en ny kohort spermier bildats, dvs tidigast efter 72 dagar. Särskilt när det gäller spermieantal föreligger stora intraindividuell variationer (World Health Organization, 2010). Dessutom bör spermieantalet i ejakulatet ställas i relation till testikelstorleken som mäts med hjälp av en orchidometer eller säkrare med ultraljud.

Vid ett lågt spermieantal i två konsekutiva prov kan utredningen kompletteras med analys av markörer för bitestiklar, prostata och sädesblåsor för bedömning av huruvida ett hinder i utförsångarna kan föreligga. Vid lågt spermieantal och små testiklar görs hormonanalys med FSH, testosteron samt, om analys av fritt testosteron inte finns tillgängligt, SHBG för en uppskattning av mängden fritt testosteron.

Referenser

- Barratt, C. L., Aitken, R. J., Björndahl, L., Carrell, D. T., de Boer, P., Kvist, U., Lewis, S. E., Perreault, S. D., Perry, M. J., Ramos, L., Robaire, B., Ward, S. and Zini, A. (2010) Sperm DNA: organization, protection and vulnerability: from basic science to clinical applications--a position report. *Human reproduction* (Oxford, England), 25, 824-838.
- Björndahl, L. and Kvist, U. (2003) Sequence of ejaculation affects the spermatozoon as a carrier and its message. *Reproductive biomedicine online*, 7, 440-448.
- Björndahl, L. and Kvist, U. (2010) Human sperm chromatin stabilization: a proposed model including zinc bridges. *Molecular human reproduction*, 16, 23-29.
- Björndahl, L., Mortimer, D., Barratt, C. L. R., Castilla, J. A., Menkveld, R., Kvist, U., Alvarez, J. G. and Haugen, T. B. (2010) *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. 1st edn, Cambridge University Press, Cambridge.
- Cooper, T. G., Noonan, E., von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H. W., Behre, H. M., Haugen, T. B., Kruger, T., Wang, C., Mbizvo, M. T. and Vogelsong, K. M. (2010) World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human reproduction update*, 16, 231-245.
- Dohle, G. R. (2003) Inflammatory-associated obstructions of the male reproductive tract. *Andrologia*, 35, 321-324.

- Guzick, D. S., Overstreet, J. W., Factor-Litvak, P., Brazil, C. K., Nakajima, S. T., Coutifaris, C., Carson, S. A., Cisneros, P., Steinkampf, M. P., Hill, J. A., Xu, D. and Vogel, D. L. (2001) Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *The New England journal of medicine*, 345, 1388-1393.
- Jedrzejcak, P., Taszarek-Hauke, G., Hauke, J., Pawelczyk, L. and Duleba, A. J. (2008) Prediction of spontaneous conception based on semen parameters. *International journal of andrology*, 31, 499-507.
- Macleod, J. (1956) Human semen. *Fertility and sterility*, 7, 368-386.
- MacLeod, J. and Gold, R. Z. (1951) The male factor in fertility and infertility. IV. Sperm morphology in fertile and infertile marriage. *Fertility and sterility*, 2, 394-414.
- Menkveld, R., Stander, F. S., Kotze, T. J., Kruger, T. F. and van Zyl, J. A. (1990) The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Human reproduction (Oxford, England)*, 5, 586-592.
- Mortimer, D. and Menkveld, R. (2001) Sperm morphology assessment--historical perspectives and current opinions. *Journal of andrology*, 22, 192-205.
- Richthoff, J., Spano, M., Giwercman, Y. L., Frohm, B., Jepson, K., Malm, J., Elzanaty, S., Stridsberg, M. and Giwercman, A. (2002) The impact of testicular and accessory sex gland function on sperm chromatin integrity as assessed by the sperm chromatin structure assay (SCSA). *Human reproduction (Oxford, England)*, 17, 3162-3169.
- Riddell, D., Pacey, A. and Whittington, K. (2005) Lack of compliance by UK andrology laboratories with World Health Organization recommendations for sperm morphology assessment. *Human reproduction (Oxford, England)*, 20, 3441-3445.
- Sifer, C., Sasportes, T., Barraud, V., Poncelet, C., Rudant, J., Porcher, R., Cedrin-Durnerin, I., Martin-Pont, B., Hugues, J. N. and Wolf, J. P. (2005) World Health Organization grade 'a' motility and zona-binding test accurately predict IVF outcome for mild male factor and unexplained infertilities. *Human reproduction (Oxford, England)*, 20, 2769-2775.
- Sripada, S., Townend, J., Campbell, D., Murdoch, L., Mathers, E. and Bhattacharya, S. (2010) Relationship between semen parameters and spontaneous pregnancy. *Fertility and sterility*, 94, 624-630.
- Verheyen, G., Tournaye, H., Staessen, C., De Vos, A., Vandervorst, M. and Van Steirteghem, A. (1999) Controlled comparison of conventional in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection in patients with asthenozoospermia. *Human reproduction (Oxford, England)*, 14, 2313-2319.
- World Health Organization (2010) WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen WHO, Geneva.

Basal spermaanalys:

- Abstinens tid, tid till analys, uppsamlingsmetod samt uppgift om uppsamlingen varit fullständig – nödvändig information för att kunna tolka analysresultat
- Ejakulatvolym
- pH – enbart vid misstanke om agenesi av sädesledare och
- Spermiekoncentration och spermieantal
- Spermierörlighet (snabbt respektive långsamt progressivt rörliga, icke progressiva, icke rörliga)
- Spermievitalitet (när få eller inga rörliga spermier)
- Spermimorfologi (Tygerbergs strikta kriterier med fyra kategorier morfologiska avvikelser och Teratozoospermi-index)
- Inflammatoriska celler
- Spermieantikroppar – i synnerhet vid nedsatt motilitet eller döda spermier)

Biokemi

TABELL

Konsensusbaserade riktlinjer för bedömning av spermaanalysresultat, i relation till spontan fertilitetspotential. Alla värden ska tolkas med en mätosäkerhet i storleksordningen 10 % under förutsättning av laboratoriet använder rekommenderade metoder, utbildning och kvalitetskontroller. (Efter Björndahl m fl. 2010 (Björndahl, et al., 2010))

Egenskap	Enhet	Normal	Gränsvärde	Patologisk	Noter
Volym	mL	2,0-6,0	1,5-1,9	<1,5	1
Spermiekoncentration	10 ⁶ /mL	20-250	10-20	<10	1,2
Totalt spermieantal	10 ⁶ /ejakulat	≥80	20-79	<20	1,2
Motilitet	% rörliga	≥60	40-59	<40	3,4
	% progressiva	≥50	35-49	<35	3,4
	% snabbt progressiva	≥25			3,4,5
Morfologi	% typiska former	≥14	4-13	<4	6
	TZI	≤1,60	1,61-1,80	>1,80	6,7
Vitalitet	% levande	≥60	40-59	<40	8
Leukocyter	10 ⁶ /mL			>1,0	9
Spermieantikroppar	% spermier med antikroppar	<50	50-79	≥80	10

1] efter 2-4 dagars sexuell abstinens

3] analys 30 minuter efter ejakulation

2] för spermaprover med volym 2,0-6,0 mL

4] analys vid 37°C

5] snabbt progressiva: $\geq 25 \mu\text{m/s}$

6] utvärderat enligt Tygerbergs strikta kriterier;
Papanicolaou-färgning för spermier

7] beräknat på fyra kategorier av avvikelser

8] Eosin-Nigrosin-färgning 30 minuter efter
ejakulation

9] cytokemisk färgning av peroxidas

10] Immunnbead™ eller MAR test för IgG eller IgA

Lars Björndahl och Claes Gottlieb

2011-02-23