

Sperma kvaliteedi uuringud

Vastavalt Maailma Tervishoiu Organisatsiooni (WHO) nõuetele loetakse spermaanalüüsi alumisteks piirnormideks, kui seemnevedeliku maht on vähemalt 1.5 ml, ühes milliliitris on vähemalt 15 miljonit seemnerakku, 40% seemnerakkudest on liikuvad ning vähemalt 4% normaalse kujuga. (<https://www.novavita.ee/lastetuse-uuringud-ja-raviprotseduurid/lastetuse-uuringud/spermaanaluus/>)

Sperma analüüsist kirjutab „Elite“ kliiniku koduleheküljel: <http://www.elitekliinik.ee/elite/viljastamine/mehe-viljakuse-test-sperma-analuus/>

- 1) **Spermide üldhulk spermas, spermide kuju ja liikuvus.** Üldiselt näitavad uuringud spermide üldhulga ja/või kontsentratsiooni vähenemist meestel (<https://novaator.err.ee/609487/laaneriikide-meeste-viljakus-vaheneb-ehmatavalt-kiiresti-tulevik-on-tume>). Viljastumisvõimelised pole näiteks „imelikult“ kahe „peaga“ või kahe viburiga spermid, ammugi ilma viburita rakud.
- 2) **Elusrakkude osakaal kogu spermide hulgas.** Normaalse sperma puhul on see tavaliselt umbes 70%. Üldiselt saab rakke värvida värviga (trüpaan-sinine, *Trypan blue*, asovärv, mida kasutatakse ka puuvilla värvimiseks), mis tungib vaid surnud rakkudesse, kuna elusrakkude membraan ei lase seda sisse või pumpab elusrakk selle aine endast välja. Nii jääb trüpaan-sinine surnud rakkudesse ja need on eluvõimelistest hästi eristatavad. Erinevate (elus/surnud) rakkude hulk on mikroskoobis kergesti loendatav. Vajadusel tehakse rakkude „lahusest“ sobiv lahendus, lisades eraldatud rakkudele sobivat füsioloogilist (vms) lahust. Preparaadil rakkude loendamiseks kasutatakse näiteks Bürkeri hemotsütomeetrit (rakuloenduskambrit), mille kasutamise põhimõte on lihtne: teatud kogus rakkude suspensiooni pipeteeritakse preparaadile/kambrisse, mille taustal oleva kindlate mõõtmega ruudustiku ruutudes olevate rakkude arv loendatakse. Hiljem leitakse rakkude keskmine hulk ruudu kohta ning raku suspensiooni lahendust arvestades ka nende „kontsentratsioon“. Rakkude täpsemaks ja kiiremaks loendamiseks kasutatakse läbivoolu-tsütomeetrit.
- 3) **Fragmenteerunud DNA hulk** (HaloSperm, vt ka <https://www.novavita.ee/lastetuse-uuringud-ja-raviprotseduurid/lastetuse-uuringud/halosperm-test/>). Arstide poole üks sagedamini kasutatud näitaja. Kui liiga suur hulk DNA-d on fragmenteerunud, on suur ka iseenesliku abordi oht. Mingi osa spermi DNAST on alati fragmenteerunud – kas lagunenud biheeliksist üksikahelateks või väiksemateks lõikudeks, näiteks vabade radikaalide toime tõttu. Vastav fluorestseeruv värvaine, akridiinoranž liitub DNA-ga, kiirates (fluorestseerumisel) üheaheelise DNA-ga liitumise puhul punast ning kaheaheelise DNA puhul rohelist valgust. Nii leitakse läbivoolu tsütomeetri abil fragmenteerunud DNA suhteline hulk. Akridiinoranži kasutatakse ka geneetikas ning see aine on üks tuntumaid fluorokroome (vt lisa: <https://et.wikipedia.org/wiki/Immunofluorestsents>). Spermide DNA fragmenteerumist soodustavad ka kõrgem vanus ja stress.
- 4) **Akroosoomreaktsioon** (akrosomaalne reaktsioon). Akroosoom on spermide „peas“ olev moodustis, mis sisaldab lüütilisi ensüüme – selleks, et spermi tuum saaks viljastumisel munarakku tungida. Akroosoomi sisemembraanil paiknevad CD46-retseptorid (valgud), mida on võimalik tuvastada fluorestseeruva värviga (teatud fluorokroomiga) liidetud antikehade abil: antikehad kinnituvad retseptorvalgule/retseptorile ning fluorkroom muudab selle nähtavaks. Kui akrosomaalreaktsioon puudub, pole spermi membraani (akroosoomi sisemembraani) retseptorid (fluorokroomiga märgistatud) antikehadele kättesaadavad. Järelikult näitab fluorestsentsi puudumine akrosomaalreaktsiooni puudumist, mis võib olla üks viljatuse põhjusi. (CD – *cluster of differentiation*). Akroosoomreaktsioon esineb ka iseeneslikult (normaalselt umbes 3-5% spermidest), laborikatsetes loetakse minimaalseks spermide hulgaks, kel akroosoomreaktsioon on, 15% - sellest väiksem hulk (%) on ebanormaalne, st näitab sperma madalat viljastamisvõimet. Spermide akroosoomreaktsiooniks ettevalmistamiseks *in vitro* kasutatakse BSA-d (Bovine Serum Albumin,

https://en.wikipedia.org/wiki/Fetal_bovine_serum), mis koos muude mõjuritega imiteerib spermide arengut viljastamisvõimeliseks rakuks emassuguteedes.

- 5) **Oksüdatiivne stress**, vabade radikaalide hulk. Samuti arstide poolt üks sagedamini kasutatavaid näitajaid, see aitab selgitada, kas viljatuse taga võivad olla põletikulised protsessid. Tavaliselt tulevad rakud vabade radikaalide kõrvaldamisega ise toime, liigne vabade radikaalide hulk rakus lõhub aga DNA-d ja teisi makromolekule. Kui see näitaja, vabade radikaalide hulk spermides on liiga suur, määratakse raviks tavaliselt antioksidantse toimega ravim. Kuid sellise ravimi doos on patsiendile väga oluline, kuna ravimi liigne hulk vähendab spermide hulka – vähendades seega viljastumise tõenäosust. Oluline oleks määrata ka spermide kogu võimekus vabade radikaalidega toimetulekuks (*total antioxidant capacity*), sest sellest oleneb ravimi õige doseerimine. Vt ka <https://mioxsys.com/>
- 6) **Põletikud**. Põletike, sh bakteriaalsete põletike puhul migreeruvad granülotsüüdid (teatud tüüp vere valgeliblesid, eeskätt neutrofiilid) põletikupiirkonda. Granülotsüüdid toodavad vabu radikaale, et võõraid või kahjustunud rakke hävitada. Nad eraldavad ka ensüüm elastaasi, elastiini ja kollageenivõrgustiku lagundamiseks – see on vajalik nende immuunrakkude jõudmiseks põletikukoldeni. Seega on tõusnud elastaasi tase põletikunäitajaks. Teatud elastiinifragmendid tekitavad ja säilitavad põletikku ja on biomarkeriks granülotsüütidele (nende hulga kasvule, st põletikule) nii kopsukoes ja mujal kui ka spermas. Elastaasi taset saab mõõta.
- 7) **Teatud tsütokiinide ja kemokiinide määramine**, mis annab infot koekahjustustest. Üldiselt on tegu infomolekulidega, mille abil saadavad rakud infot koe teistesse osadesse, närvisüsteemi, immuunsüsteemi jm. Need molekulid osalevad tavapärasel sündmusteahelas: koekahjustus – immuunreaktsioon – koe taastamine, reguleerides ka immuunrakkude migratsiooni (nt kahjustatud piirkonda) ja aktivatsiooni. Kuna niisugune diagnostika on kallis, mõõdetakse ühel patsiendil tavaliselt vaid paari tsütokiini tüüpi. Tsütokiine kasutatakse ka prekliinilises farmakoloogias erinevate valkude määramiseks. Tsütokiinid ja kemokiinid on mitmesuguste väikesemolekuliliste lahustuvate valkude või glükoproteiinide koondnimetus, mis vahendavad lühiajaliselt ja lokaalselt erinevaid bioloogilisi toimeid ja rakkudevahelist informatsiooni (<https://et.wikipedia.org/wiki/Ts%C3%BCtokiinid>; <https://et.wikipedia.org/wiki/Kemokiinid>).