

zím pátém (2010) a v současném šestém (2021) vydání Manuálu. V klinické praxi je nutné tyto hodnoty posuzovat s vědomím, že mohou i u zdravých mužů v průběhu opakovaných vyšetření v čase významně kolísat. Proto se doporučuje spermioqram s časovým odstupem, obvykle 2–3 měsíců, minimálně jednou zopakovat (1).

ROZŠÍŘENÉ VYŠETŘENÍ – DALŠÍ MOŽNOSTI POSOUZENÍ KVALITY SPERMIÍ

I u normozoospermiků se může stát, že kvalita spermií není dostatečná a po oplození oocyty se netvoří kvalitní embrya nebo se nedaří ženám otěhotnět, ať už přirozenou cestou nebo pomocí technik asistované reprodukce. Jednou z možných příčin nezdaru může být vyšší fragmentace DNA ve spermiích. Autoři do Manuálu zahrnuli několik metod vyšetření fragmentace DNA spermií (SDF-Sperm DNA Fragmentation) a také genetické vyšetření spermií metodou FISH (fluorescence in situ hybridization), které zjišťuje přítomnost mutací a chromozomálních aberací (především aneuploidií chromozomů 13, 18, 21, X a Y).

Míra zastoupení spermií s poškozenou DNA významně narůstá u mužů s hormonálními onemocněními, varikokélou, chronickými infekcemi a u kuřáků. K fragmentaci DNA může docházet během zrání spermií. Bylo prokázáno, že fragmentace DNA spermií odebraných přímo z varlete (metodou TESE) je nižší než u spermií v ejakulátu (9). Existuje více metod k posouzení integrity DNA. Metody TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase mediated deoxyuridine triphosphate nick end labeling) a COMET test využívají přímého značení zlomů DNA, zatímco u tzv. nepřímých metod, jako jsou SCSSA (sperm chromatin structure assay) a SCD (sperm chromatic dispersion test) se k označení poškozené DNA používá nespecifické značení. Některé metody využívají průtokovou cytometrii pro analýzu výsledků, jiné jsou analyzovány mikroskopicky. Vyšetření fragmentace se liší i hodnocením. U TUNEL se přímo uvádí % spermií s fragmento-

vanou DNA a laboratoř stanoví hraniční hodnotu, pro kterou je vyšší pravděpodobnost nízké fertility. U SCSSA se používá DFI (DNA fragmentation index). Hodnoty DFI nad 30 % jsou spojeny s častějším výskytem spontánních potratů a chybným vývojem embryí, jak po přirozeném oplodnění, tak po intrauterinní inseminaci. Hodnoty DFI nad 50 % mohou souviset s horšími výsledky po in vitro oplození (10, 11, 12). I zde nejsou hraniční hodnoty striktně dány. Manuál doporučuje, aby si je každá laboratoř určila sama.

Výskyt genetických příčin mužské neplodnosti významně roste s klesající koncentrací spermií v ejakulátu. Proto je dle Doporučení EAU genetické vyšetření indikováno u mužů s azoospermii a oligospermii (koncentrací spermií pod 10 mil/ml) (13). Standardně je vyšetřován karyotyp ke zjištění numerických a strukturálních anomálií chromozomů, mutace genu pro cystickou fibrózu (CFTR) a mikrolece chromozomu Y, protože některé typy mikrolece tohoto chromozomu (AZFa, AZFb) spermatogenezi vylučují. Muži s výrazně nízkou koncentrací spermií (pod 1 mil/ml) mají až 10násobný nárůst incidence (4 %) autozomálních strukturálních poruch ve srovnání s normální populací. Muži s neobstrukční azoospermii mají vyšší riziko genetických poruch, zvláště anomálií pohlavních chromozomů (gonozomů), jako je např. Klinefelterův syndrom (14). Autoři Manuálu se věnují pouze genetickému vyšetření spermií, ostatní genetické metody týkající se somatických buněk nezmiňují. Podrobně je popsána metoda fluorescenční hybridizace in situ (FISH), která je vhodná k průkazu aneuploidie spermií. Standardně se touto metodou vyšetřují autozomy 13 (Patauův syndrom), 18 (Edwardsův syndrom), 21 (Downův syndrom) a oba gonozomy (Turnerův a Klinefelterův syndrom). Zvláště gonozomální aneuploidie jsou často spojeny se závažnou poruchou spermatogeneze, selháním implantace vajíčka a opakovanými potraty (15). Proto je tento test doporučován jako screeningový nástroj u neplodných párů s poruchami vývoje vajíčka/plodu, méně často pak u těžkých oligozoospermiků.

Mezi další metody používané pro detailnější vyšetření ejakulátu patří i stanovení přítomnosti