

Ejakulat Muayenesi

*Ali Rıza AYDER**
*Sedat ÜNAL**

Ejakulat muayenesi erkek fertilitésinin araştırılmasındaki yöntemlerin en önemlilerindendir. Bozulmuş fertilitéye karar vermeden önce en azından iki kez yapılmalıdır.

EJEKULATIN TOPLANMASI

Ejakulat masturbasyon ya da koitus interruptus yoluyla geniş ağızlı ve kuru cam yada plastik bir kaba direkt olarak toplanmalıdır. Ejekulat en az 3—5 günlük cinsel perhizden sonra alınmalıdır. Hastanın tüm ejakülatını kabin içine boşaltması sağlanmalıdır. Çünkü sperm hücreleri ejakülatın içinde uniform bir dağılım göstermezler. Bu nedenle ejakülatın ilk yada son kısmının kaybı yanlış sonuçlar verebilir.

Hasta ejakülatını kendi evinde usulüne uygun olarak çıkarmalı ve 1/2 ile en geç 2 saat içinde laboratuvara ulaştırmalıdır. Ancak bu her zaman mümkün olmayabilir. Hasta ejakülatını muayenenin yapacağı yerde de çıkarabilir. Fakat bu durum hasta üzerinde bazı psişik sorunlar yaratabilir.

Kontrasepsiyon amacıyla uygulanan kondomlar ejakulat toplanması için kullanılmamalıdır.

EJEKÜLATIN BAZI ÖZELLİKLERİ

Koagülasyon ve Likefaksiyon:

Ejakulat çıktığı anda likid yapıdadır. Ancak ejakülasyonu takiben hemen koagüle olur. 5 ile 20 dakika içinde koagulum çözülür ve tekrar likefiye olur. Ejekulat bundan sonra viskoz şekilde kalır. Bu viskozite spermlerin tam motil hale geçmelerine neden olur. Koagülasyon olayında vezikülo - seminalisten salgılanan proteine benzer enzimler sorumludurlar. Daha sonra oluşan likefaksiyon da enzimatik bir olay olup, bundan prostat sekresyonundaki proteolitik enzimler sorumlu tutulmaktadır.

Vizkozite:

Ejakülatın likefaksiyondan sonra yüksek viskozi-

tede kalmasının nedeni henüz bilinmemektedir. Viskozite koagülasyondan ayrı bir fenomendir. Bu iki terim birbiriyle karıştırılmamalıdır. Proteolitik enzimlerle vizkozite arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Vizkozite 0 ile 4 arasında derecelendirilir.

Genel olarak yüksek viskozitedeki sperm hareketleri zayıftır. Ancak tek başına fertilité problemine yol açmaz.

Görünüş ve Koku:

Taze ejakulat gri—beyaz, opalesan, gatinöz bir karışımdır. Likefaksiyondan sonra içinde bulunan hücresel elemanların yoğunluğuna bağlı olmak üzere beyazdan opale kadar değişen tonlarda görülür. Kendine has orta derecede keskin kokusu vardır.

Volüm:

3 günlük cinsel perhizden sonra çıkarılan ejakulat volümü genellikle 2—5 ml kadardır. 1 ml'den az, 5 den yüksek volümlü ejakülatların 1 ml'ye düşen sperm sayıları da düşüktür. Homolog sunni döllenme (AIH) ye gerek duyulan olguların bir çoğu 1,5 ml ya da daha az volümdeki ejakülate sahip olgulardır. Çünkü bunların sperm kalitesi ve postkoital test sonuçları zayıftır.

nn sperm kalitesi ve postkoital test sonuçları zayıftır.

MİKROSKOBİK MUAYENE

Lam üzerine bir damla ejakulat damlatıp üzeri lamelle kapatıldıktan sonra basit mikroskopta deneyimli bir gözle incelendiğinde sperm yoğunluğu, motilite durumu ve morfolojik özellikler açısından global bir fikir sahibi olunur. Eğer hastada enfeksiyon varsa ejakülatta sayıca çok lökositler saptanır. Ender de olsa canlı trikomonastlar yada köpük hücreleri bulunabilir. Germinal tabakanın primitif hücreleri lökositlerle karışabilir. Bu durumda hematoksilen boyası ile ayırıcı tanı yapılır.

* Ankara Ü. Tıp Fakültesi Üroloji Ana Bilim Dalı Araştırma Görevlisi

Ejekulat muayene edilmeden önce bir müddet bekletildi ise bol miktarda keskin kenarlı sperm fosfat kristalleri dikkati çekebilir. Kimyasal olarak bunlar charcot—leyden kristalleri ile aynıdır.

Ender de olsa ejakulat içinde spermilerin aglutinasyonu dikkati çekebilir. Ayrıca bu aglutinasyon birkaç taneden ciddi sayılabilecek çoklukta olabilir. Baş-başa, kuyruk—kuyruğa, ve başla—kuyruk olmak üzere üç türlü aglutinasyon tipi vardır. Bir çok olguda aglutine olmuş spermeler hareketli olarak görülmelerine karşın kümenin orta kısımlarındaki sperm hücreleri ya çok zayıf hareketlidir yada hareketsizdirler.

İçinde sperm hücresi bulunmayan ejakulatlar (azoospermi) yada çok az sperm hücresi bulunanlar direk mikroskopik muayenede saptanabilirler. Olgun hiçbir sperm hücresinin bulunmadığı olgularda duktal obsrüksiyon deneyimli bir kişi ve dikkatli bir muayene ile ekarte edilmelidir. Olgun spermelerin ve olgunlaşmamış hücrelerin ejakulatta bulunmadığına karar vermeden önce ejakulat 3000 devirli bir santrifüjde 5 dakika santrifüje edilip tekrar muayene edilmelidir.

Bütün azoospermili ejakulatlarda mutlaka seminal fruktoz bakılmalıdır. Fruktoz vezikulo—seminaliste yapılır ve tüm ejakulatların hepsinde vardır. Konjenital bilateral duktus deferens ve vezikulo—seminalis yokluğunda ejakulatta fruktoz bulunmaz. Fruktoz yokluğu keza her iki duktus ejakulatoriusu tıkalı hastalarda da görülür. Bunlara ek olarak fruktoz, bazı retrograd ejakulasyon tiplerinde de bulunmaz.

Seminal fruktozun varlığını saptamada basit bir test aşağıdaki şekilde yapılır:

1—Fruktoz reaktörü yapımı: 50 mg toz resorcinol + 33 ml konsantre HCl + 100 ml saf su karıştırılır.

2— 0,5 ml ejakulat + 5 ml fruktoz reaktörü bir tüpte karıştırılır ve kaynatılır. Fruktoz varlığında kaynamadan 1 dakika sonra karışım portakal kırmızısı renk alır. Eğer fruktoz yoksa karışım renksiz kalır.

SPERM HÜCRELERİNİN SAYIMI

Sperm saymak kan sayımı işlemine çok benzetilmektedir. Sperm hücrelerinin hareketsizleştirilmesi %4'lük sodyum bikarbonat ve %1'lik fenol içeren çözelti kullanılarak sağlanmaktadır. Bu çözelti 16 gr. sodyum bikarbonat ve 4 gr fenolü 400 ml saf suda karıştırılarak elde edilir. Bir lökosit pipeti ile birlikte standart Neubauer sayım camının eritrosit sayma bölümleri kullanılır. Otomatik sayıcı bir alet yardımcı olabilirse de gerekli değildir.

Ejekulat örneği iyice karıştırılıp bir kısmı lökosit pipetine çekilir. Ejekulat doğrudan damla yöntemi ile

incelendiğinde alan başına 50.000'den fazla yani yüksek konsantrasyonda sperm gözlenmişse 1/20 dilüsyon hazırlanır. Ejekulat pipetin ucundan 0,5 işaretine kadar yukarı çekilir. Daha sonra pipet baloncuğunun tepesindeki işarete kadar bikarbonat—fenol solüsyonu ile doldurulur ve iyice sallanır. Eğer ejakulat doğrudan incelendiğinde az sayıda sperm gözlendi ise 1/10 dilüsyon hazırlanır. Bu durumda lökosit pipetinde baloncuğunun hemen altındaki 1 işaretine kadar ejakulat çekilir ve baloncuk önceki gibi bikarbonat—fenol solüsyonu ile doldurulur.

Karışım iyice sallandıktan sonra, pipet ucundan sıvının birkaç damlası dışarı atılır ve Neubauer sayım camı 2 yandan pipet karışımı ile dikkatle doldurulur. Sayımda kesinlik için sayma işlemi bölmenin her iki tarafında ayrı ayrı yapılır ve her alan için ortalamalar alınır.

Sayım bölmesinin eritrosit alanındaki hareketsizleştirilmiş sperm hücreleri saydır. 16 küçük karelik 5 blok (toplam 80 küçük kare) içinde bulunan tüm sperm hücreleri sayılır. Tutarlılık için karelerin sol ve üst çizgileri üzerinde bulunan sperm hücreleri sayılır. Alt ve sağ çizgi üzerindeki sayılmaz.

Bundan sonra ml'de milyon olarak sperm hücre sayımı aşağıdaki gibi hesaplanır:

1— 1/20 dilüsyon için 5 blok içindeki toplam sayıya 6 sıfır eklenir.

2— 1/10 dilüsyon için 5 blok içindeki toplam sayı ikiye bölünür ve 6 sıfır eklenir.

3— Eğer 1/10 dilüsyonda sayma bölgesinde çok az sayıda sperm hücresi varsa o zaman 5 blok yerine tüm eritrosit alanındaki sperm hücreleri sayılır. 25 bloktaki sperm hücrelerinin sayısına 5 sıfır eklenir.

5 milyon /ml den daha az olan oligospermilerde daha kesin bir sayım yapılmak isteniyorsa bu durumda 0,1 ml ejakulat 0,1ml dilüe edici sıvı ile karıştırılır ve doğrudan doğruya sayım bölmesine konur. 25 bloktaki tüm spermeler sayılır, iki ile çarpılır çıkan rakama 4 sıfır eklenir.

Yalnız aynı teknisyen tarafından gerçekleştirilen çift sayımlar da bile ortalama %20'ye varan farklılıklar ortaya çıkabilir. Bu nedenle hastanın sperm üretim seviyesini bulmak için birden fazla örnek alınmalıdır.

Eğer ejakulat örneği pipete çekilemeyecek kadar yoğun ise o zaman 1:1 oranında ALEVAIRE ile dilüe edilir, yoğunluk giderilir, sonuçtaki sayım 2 ile çarpılır.

Elimizde kesin bir sayı olmamasına karşın mini-

Türkiye Klinikleri — Cilt : 4, Sayı : 1, Mart 1984

mal normal değer mililitre başına 40 000 000 ya da tüm ejakulatta 125 milyon sperm olarak kabul edilebilir. Bu sayılar sperm motilitesi ve morfolojisi normal ise geçerlidir. Ancak gerçek oligo spermnin ml başına 20 milyondan az olduğunu kabul edenler de vardır. Sperm sayısı düştükçe hamilelik olasılığı da bu oranda azalmaktadır.

SPERM MOTİLİTESİ

Sperm sayımından da önemli olan şey sperm hücrelerinin motilitesidir. Lam üzerine bir damla ejakulat yerleştirilir, ve lamel ile kapatılır. Ejakulat damlası lamelin altını ancak kaplayacak kadar olmalıdır. Eğer damla çok büyük olursa lamel ejakulat üzerinde yüzecek ve mikroskopta birkaç tabaka sperm görülecektir. Bu da motil spermilerin oranının saptanmasında yanılgıya yol açacaktır. Sperm motilite oranı ancak ancak birçok büyük büyütme alanlarını taranmasından sonra saptanmalıdır. Çünkü yalnızca birkaç salıanın taranması büyük yanılgılara neden olabilir. Bir çok laboratuarda en az 25 alan tarandıktan sonra ortalama motilite oranı saptanır. Hücrelerin motilite durumu 0 dan 4'e kadar değişen bir değerlendirme düzeni içinde yapılır.

Motilite aşağıdaki gibi değerlendirilir:

0 : Hareket yok

1 : Spermiler hareketlidir ama ileri hareket yoktur.

1+: Spermiler hareketlidir bunun yanında hafif ileri hareket vardır.

2: Spermiler yılankavi hareketler gösterir hafif ileri hareket vardır.

2+: Sperm hareketleri daha düzgündür, hafif ileri hareket vardır.

3: Sperm hareketleri daha da düzgündür, orta derecede ileri hareket vardır.

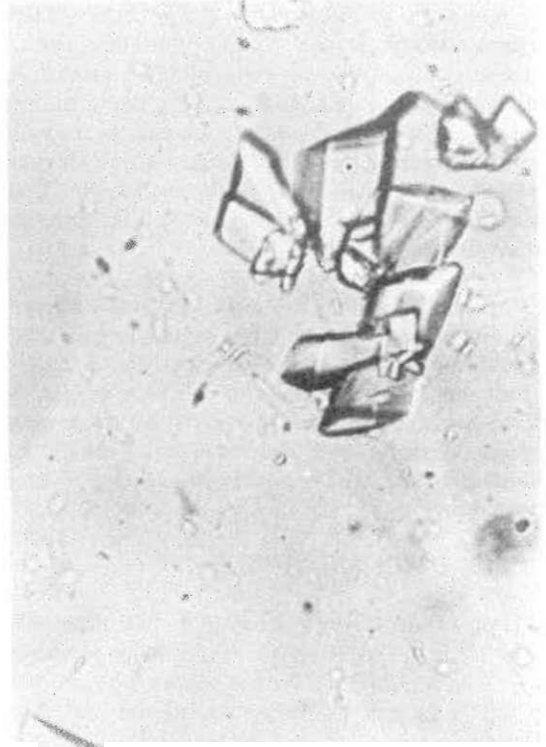
3+ Spermiler doğru bir hat üzerinde hızla ileri gitmektedir.

4: Spermiler doğru bir hal üzerinde çok hızla ileri gitmektedir.

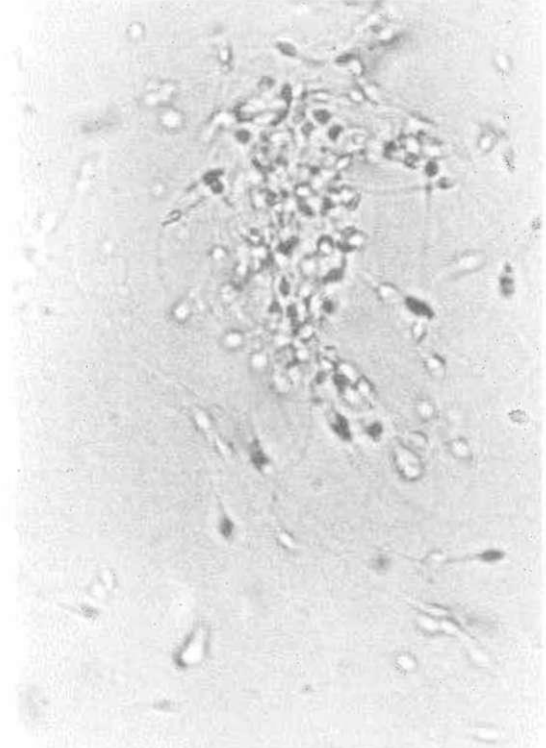
3. Derece ve yukarısı çok iyi motilite durumu belirtir. 2 + zayıf motilite ile orta motilite arasındaki sınırdır. Bu derecelendirme sistemi tabii ki sübjektiftir. Ancak deneyimli bir gözlemci tarafından uygulanırsa çok iyi sonuç verir.

Gerçek nekrospermilerde motilite 0 dır ve eozin—nigrosin gibi vitalite boyalarının bu olgularda diagnostik değeri vardır.

Türkiye Künikleri - C17r : 4, Sayı : 1, Mart 1984



Şekil 1: Spermine fosfat kristalleri



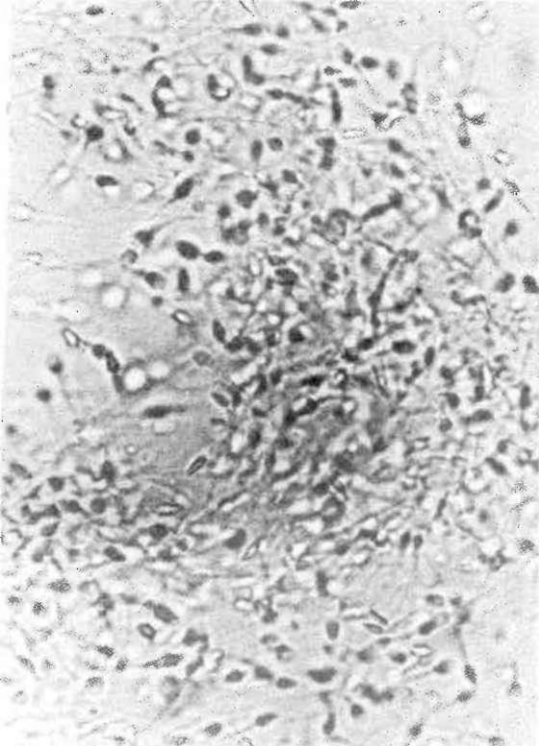
Şekil 2: Hafif derecede aglutine olmuş spermiler. Bu şekildeki bir aglutinasyon yüksek sperm «ayıltı» ejakulailarda normal olarak bulunabilir.

Ejekulat çıkarıldıktan 2—3 saat sonra gözlendiğinde spermlerin en az %60'ının iyi bir ileri hareketle beraber güçlü motiliteye sahip olmaları gerekmektedir. Ejekulat oda ısısında uygun bir kaptaki saklandığında motilite giderek azalır ve 24 saat sonra yalnızca çok az motil sperm kalır. İnvitro olarak ejakulatin motilitesini defalarca gözlemek gereksizdir. Çünkü sperm hücrelerinin vajen içinde ve invitro şartlardaki aktivitesi değişiktir.

10 gün veya daha fazla süre ile cinsel faaliyette bulunmamış erkeklerde kimi zaman normal sperm sayısına karşın zayıf sperm motilitesi bulunabilir. Bu durum kanal sistemi içinde depolanmış ve beklemiş hücrelerin bozulmasına bağlıdır. Aynı hastadan kısa bir süre sonra alınacak yeni bir ejakulat örneğinin incelenmesi motilitede önemli bir gelişmeyi ortaya koyacaktır.

MORFOLOJİK GÖRÜNÜM

Sperm hücrelerinin morfolojik özellikleri en az hücre sayısı ve motilitesi kadar göz önüne alınmalıdır. Bu işlem lam üzerine hücreleri yayma, boyama ve boyanmış preparatların değerlendirilmesi ile yapılır. Bunun için papanicolaou boyama yöntemi en uygunu olmasına karşın pratik değildir. Ancak araştırma la-



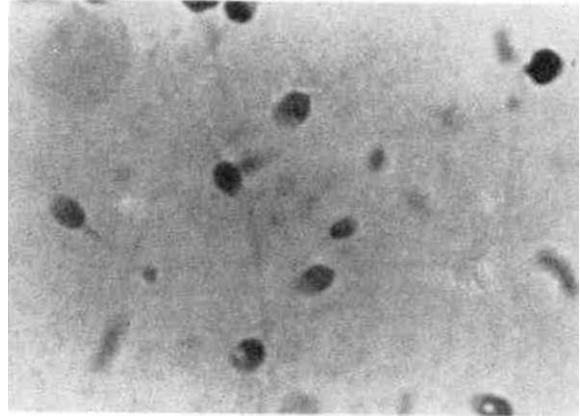
Şekil 3: Aşırı derecede aglutine olmuş sperm. Baş - başa, kuyruk-kuyruğa ve kanşık tipte aglutinasyon örnekleri görülmektedir.

boratuvanlarında kullanılabilir. Muayenehanelerde bile uygulanabilecek en pratik yöntem hematoksilen boyamasıdır.

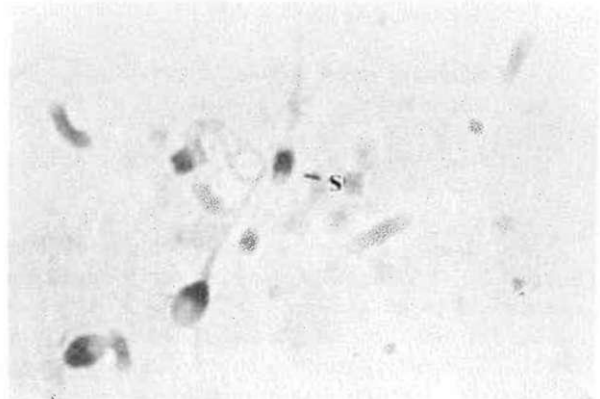
Araştırmacılar yaklaşık 60 kadar farklı morfolojik tip tarif etmiş olmalarına karşın pratik olarak 6 majör tip kullanılır. Bu tipler:

1— Oval veya normal, 2- Geniş, 3- Küçük, 4— Gittikçe incelen, 5- Çift baş veya kuyruk, 6— Amorf hücrelerdir. Bu terimler spermin başının görünüşüne göre yapılır. Amorf terimi ilk 5 kategoriye sokulamayan sperm için kullanılmaktadır.

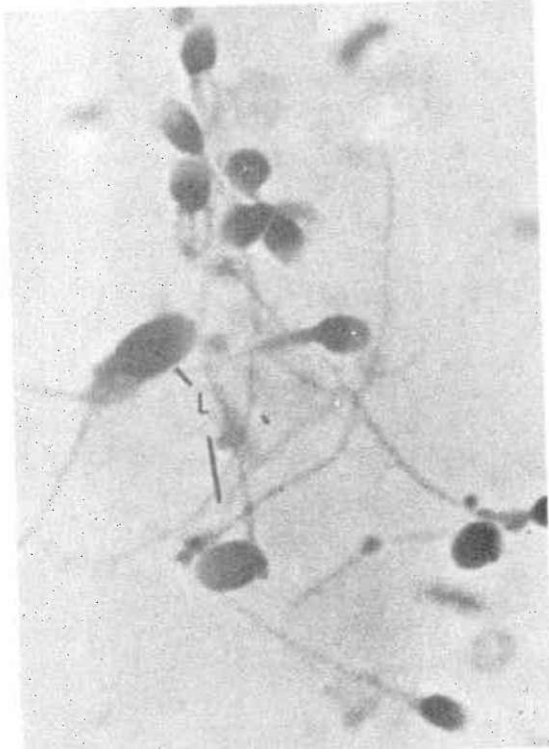
Normalde spermlerin en az %60'ı oval veya normal olarak bulunmalıdır.



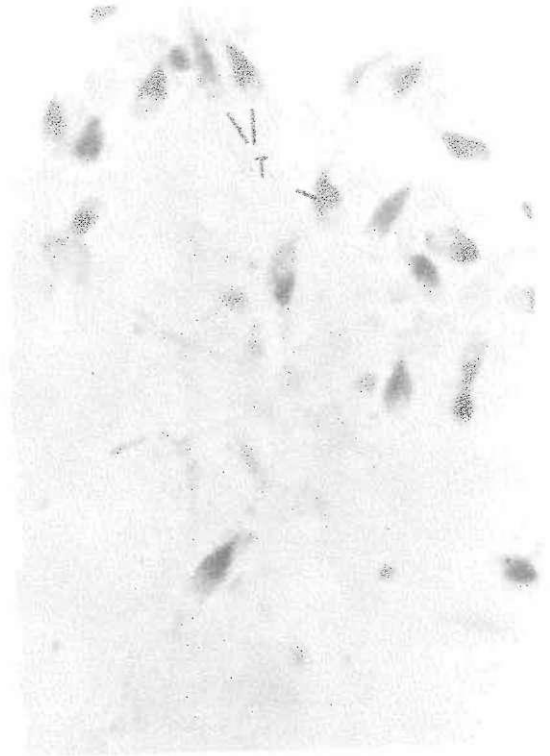
Şekil 4: Normal oval sperm.



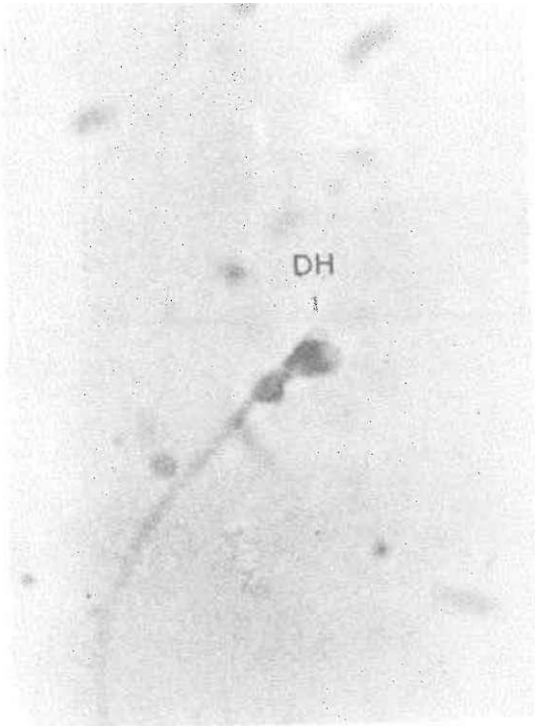
Şekil 5: 2 normal sperm ve 1 tane küçük (S) sperm.



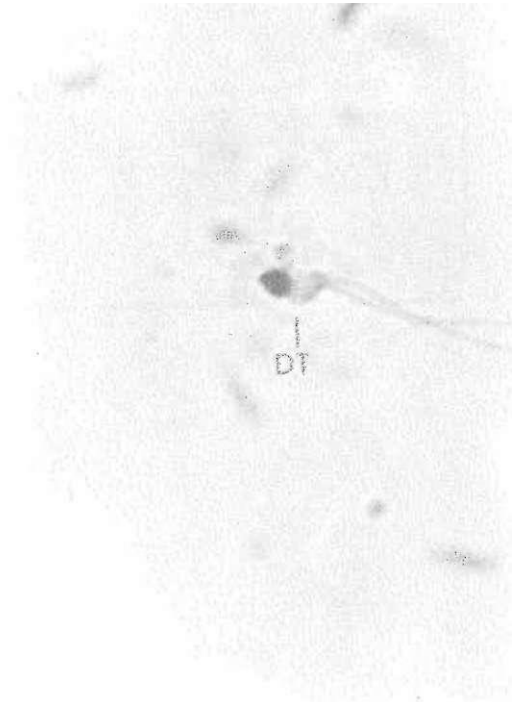
Şekil 6: Birkaç normal ve 2 tane büyük (L) sperm.



Şekil 7: Gittikçe incelen (T) spermler.



Şekil 8: Çift baş anormalisi (DH).



Şekil 9: Çift kuyruk anormalisi (DT).

KAYNAKLAR

1. Amelar, R.D., DUBIN, L Semen analysis Male infertility chapter 5 p: 105 ~ 140, 1977 W.B. Saunders company Philadelphia, London, Toronto.
2. Amelar, R.D.; Coagulation, liquefaction and viscosity human lermenJ. UroL 87:187,1962
3. Amelar, R.D. Dublin, L and Schoenfeld.C.: Semen analysis. UROLOGY. 2: 605,1973
4. Johnson, T.H: Simple technique for direct semen examinationJ.UroL 89: 262, 1963.
5. Mac Leod, J: The semen examination Clin.obstetgynecol 8:115-127,1965
- 6- Zorngiotti, A, W,: The spermatozoa count Urology, 5: 672,1975