

## Η μελέτη στο σπέρμα των κυπάρων της σπερματικής και της λευκής σειράς

I. Παπαδήμας, Θ. Ζεγκινιάδου, Σ. Μανταλενάκης

Α' Μαιευτική - Γυναικολογική Κλινική ΑΠΘ (Ειδική Μονάδα Ενδοκρινολογίας της Αναπαραγωγής) - Ιπποκράτειο Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

**Περιληψη.** Μετηναστικό παρασκήνιο αυτή παρουσιάζονται πρόσφατα βιβλιογραφικά δεδομένα σε ό,τι αφορά τη μελέτη στο σπέρμα των κυπάρων της λευκής και της σπερματικής σειράς. Από τις μεθόδους εκτίμησης των κυπάρων στο σπέρμα οι δύο σπουδαιότερες είναι η μέθοδος της υπεροξειδάσης και η ανοσοϊστοχημική μέθοδος. Συζητούνται βασικά θέματα, όπως η σχέση των λευκών με τις παραμέτρους του σπέρματος, με την γονιμότητα του άνδρα και με τα αποτελέσματα της εξωσωματικής γονιμοποίησης.

**Λέξεις ευρετηριασμού:** Ανδρική γονιμότητα, κύπαρα της λευκής σειράς, κύπαρα της σπερματικής σειράς, σπερμοδιάγραμμα.

**Abstract.** J. Papadimas, T. Zeginiadou, S. Mantalenakis. The presence of white blood cells and immature germ cells in semen. First Obstetrics and Gynaecology Clinic, Aristotelian University of Thessaloniki. Special Unit for Reproductive Endocrinology, Hippokration General hospital of Thessaloniki, Greece Adol Gynec Report Memo 1998, 10 (2): 117-122.

The current literature for the significance of the presence of white blood cells and immature germ cells in a semen sample is reviewed. The most accurate methods for the determination and differentiation of round cells present in semen are peroxidase cytochemistry and immunocytochemistry. Other issues which are dealt with in this article include the relationship between white blood cells and semen parameters, male fertility and the outcome of in vitro fertilization.

**Key Words:** Immature germ cells, male infertility, white blood cells

### Εισαγωγή

Είναι γνωστό στους ασχολούμενους με την ονδρική υπογονιμότητα ότι η προσεκτική εκτίμηση του σπερμοδιαγράμματος αποτελεί ένα βασικό πρώτο βήμα στη διάγνωση και στην αιτιολογική κατάτοξη του υπογόνι-

μου άνδρα. Είναι επίσης γνωστό ότι η εκτίμηση του σπερμοδιαγράμματος περιλογίζεται εκτός από τις κλασικές παρομέτρους, όπως ο αριθμός, η κινητικότητα και ο μορφολογία των σπερματοζωαρίων και τη μελέτη των στρογγυλών κυπάρων (round cells) που ανευρίσκονται στο σπέρμα. Έχει μάλιστα γίνει γενικά αποδεκτό ότι η αντικειμενική μέτρηση του αριθμού, αλλά κυρίως η διευκρίνιση των είδους των στρογγυλών κυπάρων έχει σημαντική κλινική σημασία (1). Η ανεύρεση για παρόδειγμα μεγάλου αριθμού κυπάρων της λευκής σειράς (λευκοσπερμία ή πυροσπερμία) προσανατολίζει –με συντίμηση βέβαια και πολλών άλλων κλινικών και ερ-

γαστριακών παραμέτρων – προς τη διάγνωση της λοιμωξίας (2). Η ανεύρεση αντίθετα μεγάλου αριθμού αώρων κυπάρων της σπερματικής σειράς προσαντολίζει προς τη διάγνωση μιας διαταραχής της σπερματογένεσης (3).

Η ανασκόπηση αυτή έχει ακριβώς τον σκοπό να παρουσιάσει τα βιβλιογραφικά δεδομένα πάνω στα ανωτέρω θέματα και να τονίσει τα σημεία στα οποία φαίνεται να υπάρχει διεθνής ομοφωνία. Το ερώτημα λοιπόν “άωρο ή λευκό;” φαίνεται ότι είναι ένα καίριο διαγνωστικό πρόβλημα στα πλαίσια της μελέτης του υπογόνιμου ανδρα.

### Κύπαρα της λευκής σειράς στο σπέρμα

Τα κύπαρα της λευκής σειράς διακρίνονται σε δύο ομάδες: τα άκοκκα και τα κοκκώδη, με βάση την παρουσία ή όχι μη κυπαροπλασματικών κοκκίων. Στα άκοκκα ανήκουν τα λεμφοκύπαρα και τα μονοπύρνα, ενώ στα κοκκώδη ανήκουν τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνα, τα εωσινόφιλα και τα βασεόφιλα. Όλοι αυτοί οι τύποι των κυπάρων της λευκής σειράς είναι γνωστό ότι ανευρίσκονται και στο σπέρμα σε άλλοτε άλλες αναλογίες (4). Από τους διάφορους τύπους των κυπάρων της λευκής σειράς τα περισσότερα σε αριθμό είναι τα κοκκώδη κύπαρα (50-60%), εκ των οποίων τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνα είναι το μέγιστο ποσοστό (4, 5, 6, 7). Ακολουθούν τα μακροφάγα (20-30%) και τα Τ-λεμφοκύπαρα (2-5%). Τα πλασματοκύπαρα και τα Β-λεμφοκύπαρα βρίσκονται σπάνια στο σπέρμα (4). Σε μια πολύ ενδιαφέρουσα εργασία έχει γίνει μέτρηση, με ανοσοϊστοχημική μέθοδο και με τη χρήση ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων για το κάθε ειδούς κυπάρου της λευκής σειράς, των σπουδαιότερων τύπων κυπάρων της λευκής σειράς σε μεγάλους αριθμούς γεννιμών και υπογόνιμων ανδρών. Έτσι ο ολικός αριθμός των λευκών ως μέση τιμή στους γόνιμους άνδρες είναι 170.000 στο δείγμα, ενώ η αντίστοιχη τιμή στους υπογόνιμους είναι 1.035.000. Ειδικότερα ο αριθμός των κοκκωδών κυπάρων είναι 10.000 στους γόνιμους και 537.000 στους υπογόνιμους, ενώ ο αριθμός των μακροφάγων είναι 51.900 στους γόνιμους και 228.000 στους υπογόνιμους. Αντίστοιχες εντυπωσιακές διαφορές μεταξύ γόνιμων και υπογόνιμων ανδρών βρέθηκαν και στους πληθυσμούς των Τ και των Β-λεμφοκυπάρων (4).

Σε δύο αφορά το ερώτημα ποιος είναι ο αριθμός των κυπάρων της λευκής σειράς στα φυσιολογικά ή “γόνιμα” σπέρματα, οι περισσότεροι συγγραφείς συμφωνούν με το δρώμενο της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (ΠΟΥ),

δηλαδή μέχρι 1 εκατομμύριο λευκά ανά άλιμη μεριμνα (8). Βέβαια υπάρχουν και μεμονωμένες εργασίες, στις οποίες αναφέρονται πολύ χαμηλότερα όρια (4). Στις λοιμώξεις των επικουρικών γεννητικών αδένων ο αριθμός των λευκών είναι σαφώς μεγαλύτερος των ορίων συτών στις περισσότερες εργασίες, αν και υπάρχουν μεμονωμένες εργασίες που δεν βρίσκουν αύξηση των λευκών σε υπογόνιμους άνδρες με λοιμωξή (6, 7). Συμπερασματικά πρέπει να σημειωθεί ότι η αύξηση του αριθμού των λευκών είναι βασική παράμετρος της παρουσίας λοιμωξης των επικουρικών γεννητικών αδένων (2, 8, 9), δεν σχετίζεται όμως σαφώς με την υπογονιμότητα του συγκεκριμένου δείγματος.

### Μέθοδοι εκτίμησης των κυπάρων της λευκής σειράς

Ένα βασικό σημείο, στο οποίο υπάρχει βιβλιογραφική συμφωνία, είναι ότι είναι επιβεβλημένη πριν από όλα η σαφής και αντικειμενική διαφοροποίηση του κυπάρου της λευκής σειράς από το άωρα κύπαρο της σπερματικής σειράς (10). Ο σκοπός αυτός επιτυγχάνεται με διάφορες μεθόδους, οι κυριότερες από τις οποίες που χρησιμοποιούνται πλέον ευρύτατα είναι η μέθοδος της υπεροξειδάσης και η ανοσοϊστοχημική μέθοδος με τη χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων.

**Μέθοδος Bryan-Leishman.** Η χρωστική αυτή μέθοδος αναπτύχθηκε το 1976 από τον Couture (10). Βασίζεται στη χρήση της ουσίας α-ναφθόλη, η οποία διαφοροποιεί τα άωρα κύπαρα της σπερματικής σειράς από τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνα και έτσι επιτυγχάνεται ο σαφής διακωρισμός τους. Η μέθοδος σύμως αυτή παρουσιάζει το ακόλουθο μειονέκτημα: μπορεί να γίνει υπερεκτίμηση του αριθμού των λεμφοκυπάρων και υποεκτίμηση του αριθμού των κοκκωδών κυπάρων. Έτσι δεν χρησιμοποιείται συνήθως σε εξετάσεις ρουτίνας για τον προσδιορισμό του αριθμού ή του είδους των στρογγυλών κυπάρων στο σπέρμα.

**Μέθοδος ελαστάσης.** Η ελαστάση είναι ένα ένζυμο που εκκρίνεται από τα διεγερμένα κοκκιοκύπαρα. Η παρουσία του ενζύμου και ο ποσοτικός του προσδιορισμός στο σπερματικό υγρό γίνεται με ακρίβεια χρησιμοποιώντας την ανοσολογική τεχνική Elisa (11). Έχει αποδειχθεί ότι η μέθοδος αυτή, σε σύγκριση με τη μέθοδο που χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα, δίνει αποτελέσματα με πολύ καλή θετική συσχέτιση (12). Σημειώνεται όμως ότι σε άλλη εργασία (13) δεν βρέθηκε θετική συσχέτιση της μεθόδου ελαστάσης με τη μέθοδο της υ-

περοξειδάσης. Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγηθεί όπό ότι οι δύο μέθιδοι έχουν διαφορετικό αντικείμενο. Η μεν υπεροξειδάση μετράει κάτι που βρίσκεται μέσα στο κύπαρο, ενώ η έλαστάση μετράει εξωκυπαρική έκκριση του ενζύμου. Ο ήροοδιορισμός όμως της έλαστάσης δεν χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό του αριθμού των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων στις εξετάσεις ρουτίνας λόγω του κόστους, του χρόνου και του ειδικού εξοπλισμού που απαιτείται.

**Μέθοδος κατά Παπανικολάου.** Η μέθιδος χρησιμοποιείται ευρύτατα για τη μελέτη της μορφολογίας των σπερματοζωαρίων. Η χρώση αυτή μπορεί να ξεχωρίσει τα κύπαρα της λευκής σειράς από τις άωρες μορφές των σπερματικών κυπάρων λόγω της διαφοράς στο χρώμα του κυπαροπλάσματος και του σχήματος του πυρήνα. Ο διαχωρισμός όμως των διαφορετικών στρογγυλών κυπάρων του δείγματος δεν είναι πάντοτε αξιόπιστος, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για τον διαχωρισμό των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων από τις σπερματίδες με πολλούς πυρήνες και για τον διαχωρισμό των λεμφοκυπάρων ή μονοκυπάρων από τα σπερματοκύπαρα (14).

**Ανοσοϊστοχημική μέθοδος.** Ήδη από το 1980 έχουν αναπτυχθεί πολλά μονοκλωνικά αντισώματα, που έχουν την ικανότητα να ξεχωρίσουν με ακρίβεια όλους τους τύπους των λευκών κυπάρων (5, 15, 16, 17). Η μέθιδος αυτή αποτελείται την πιο αξιόπιστη μέθοδο προσδιορισμού του αριθμού και του είδους των λευκών κυπάρων. Η χρήση της όμως περιορίζεται σε ερευνητικές μελέτες λόγω του υψηλού κόστους και του χρόνου που απαιτείται για κάθε δείγμα.

**Μέθοδος της υπεροξειδάσης.** Η μέθιδος αυτή αναπτύχθηκε από τον Enäts (18) και αποτελεί μια ιστοχημική μέθοδο που χρηματίζει τα κύπαρα με την θεντιδίνη. Το 1980 ο Nahoum (19) αντικατέστησε την θεντιδίνη με ο-τολουιδίνη. Η ο-τολουιδίνη από άκρωμη γίνεται καφέ μειά τη δράση της υπεροξειδάσης στο υπεροξειδίο του υδρογόνου, δίνοντας έτσι καφέ χρώμα στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα. Επειδή, όπως έχει ήδη συνεργεθεί, τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα αποτελούν τον πιο συχνό τύπο λευκών κυπάρων στο σπέρμα (50-60%), η μέθιδος της υπεροξειδάσης αποτελεί μια πολύ καλή μέθοδο προσδιορισμού του είδους και του αριθμού των στρογγυλών κυπάρων στο σπέρμα (9). Σημειώνεται εδώ ότι τη μέθιδο αυτή χρησιμοποιούμε και εμείς από το 1996 στην Ειδική Μονάδα Ενδοκρινολογίας της Αναπαραγωγής στην Α' Μαιευτική και Γυναικολογική Κλινική του Αριστοτελέος Πανεπιστημίου

Θεσσαλονίκης.

### Σχέση των κυπάρων της λευκής σειράς με τις παραμέτρους του σπέρματος

Υπήρχε πάντοτε το ερώτημα εάν και σε ποιό βαθμό η παρουσία στο σπέρμα των λευκών αιμοσφαιρίων, ιδιαίτερα δε των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων, έχει κάποια επίδραση στην ποιότητα του σπέρματος. Με σκοπό την απάντηση στο ερώτημα αυτό έχουν γίνει αρκετές εργασίες με ποικιλά αποτελέσματα (2, 5, 6, 20, 21). Σε διάφορά των αριθμό και την κινητικότητα των σπερματοζωαρίων, σε παλαιότερες σχετικά εργασίες παρατηρείται μείωση των παραμέτρων αυτών στα σπέρματα των υπογόνιμων ανδρών με λευκοσπερμία (5, 20). Σε διάφορά τη μορφολογία των σπερματοζωαρίων, σε μια παλαιότερη εργασία ανευρίσκεται μείωση του ποσοστού των φυσιολογικών μορφών παράλληλα με τη μείωση του αριθμού και της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων (5, 21, 22). Τα αποτελέσματα όμως αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από άλλες πλέον πρόσφατες ανάλογες εργασίες (6, 7), στις οποίες μετά από προσεκτική μελέτη σε μεγάλο αριθμό υπογόνιμων ανδρών δεν αποδείχθηκε μείωση των παραμέτρων του σπέρματος από την παρουσία λευκοσπερμίας. Αντίθετα όμως με τις κλασικές παραμέτρους του σπερμοδιαγράμματος, φαίνεται ότι οι δοκιμασίες λειτουργικότητας των σπερματοζωαρίων επηρεάζονται αρνητικά από τη λευκοσπερμία και σε αυτό το σημείο συμφωνούν οι περισσότερες μελέτες (23, 24, 25, 26, 27, 28). Από τις δοκιμασίες αυτές αναφέρονται οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες:

**1. Η δοκιμασία διεισδύσεως των σπερματοζωαρίων σε ωάρια ινδικών χοιριδίων (hamster egg penetration test, HEPT).** Με τη δοκιμασία αυτή γίνεται εκτίμηση της ικανότητας των σπερματοζωαρίων να εμφανίσουν την ενεργοποίηση και την ακροσωμική αντίδραση. Σε σπέρματα ανδρών με λευκοσπερμία παρατηρήθηκε μείωση της διεισδύσης των σπερματοζωαρίων με τη χρήση της μεθόδου αυτής (23, 24). Το ευρήματα αυτό επαληθεύθηκεν πειραματικά με την απομόνωση ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων από το περιφερικό αἷμα και την προσθήκη τους σε φυσιολογικά δείγματα σπέρματος, τα οποία εμφάνισαν μειωμένη HEPT (25, 26).

**2. Η δοκιμασία αποσυμπύκνωσης της χρωματίνης του πυρήνα (nuclear chromatin decondensation test, NCD).** Με τη δοκιμασία αυτή γίνεται εκτίμηση της ικανότητας της χρωματίνης του πυρήνα του σπέρ-

ματογωαρίου να "ξεδιπλώνεται" υπό την επίδραση ορισμένων κημικών μορίων. Σε πρόσφατη σχετικά εργασία (25) παρατηρήθηκε μείωση αποσυμπύκνωσης της κρωματίνης σε σπέρματα ανδρών με λευκοσπερμία.

**3. Η δοκιμασία της διογκώσεως του σπερματοζωαρίου σε υποοσμωτικό περιβάλλον (*hypoosmotic swelling test, HOS*).** Μετη δοκιμασία αυτή γίνεται εκτίμηση της ικανότητας της μεμβράνης του σπερματοζωαρίου για οσμορύθμιση. Η δοκιμασία αυτή επηρεάζεται επίσης αρνητικά (27) από την παρουσία λευκοσπερμίας, αν και υπάρχουν ως προς το θέμα αυτό αντίθετες απόψεις (28).

Συμπερασματικά φαίνεται ότι η λευκοσπερμία επηρεάζει δυσμενώς πολλές από τις λεπτούργιες των σπερματοζωαρίων, που σχετίζονται με τον πυρήνα, την κυτταρική μεμβράνη, την ενεργοποίηση και την ακροσωματική αντίδραση.

#### Σχέση των κυττάρων της λευκής σειράς με τη γονιμότητα

Είναι γνωστό από αρκετές μελέτες ότι τα σπέρματα των υπογόνιμων ανδρών σε σύγκριση με σπέρματα γόνιμων ανδρών παρουσιάζουν μεγαλύτερους αριθμούς λευκών (4, 29, 30). Υπάρχουν όμως και εργασίες στις οποίες παρατηρήθηκε ακριβώς το αντίθετο εύρημα, δηλαδή μείωση των λευκών στα σπέρματα υπογόνιμων ανδρών σε σχέση με γόνιμους άνδρες (15, 31). Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα επαναφέρουν το ερώτημα τι σημαίνει λευκοσπερμία και ποιο είναι το δριό του αριθμού των λευκών στα σπέρματα, μέχρι το οποίο θεωρείται φυσιολογικός ο αριθμός των λευκών. Είναι γνωστό ότι η ΠΟΥ (8) θέτει ως δριό του αριθμού των λευκών στο φυσιολογικό σπέρματος 1 εκατομμύριο ανά ml. Γίνεται βέβαια αντιληπτό ότι το δριό αυτό είναι αυθαίρετο και δεν είναι ποράξενο ότι πολλοί ερευνητές το έχουν αμφισβητήσει (12, 21, 32, 33). Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη των Harisson και συν (34), στην οποία έγινε έλεγχος του αριθμού των λευκών σε άνδρες που είχαν αποκτήσει πειδίτους τελευταίους 12 μήνες. Οι αριθμοί των λευκών στα σπέρματα αυτών κυμαίνονταν σε ευρύτατα διπλασία από 0,5-16,5 εκ/ml. Μεγάλο λοιπόν ποσοστό ανδρών, που με βάση το δριό της ΠΟΥ έχουν σαφέστεσση λευκοσπερμία, παρουσιάζουν φυσιολογική γονιμότητα. Η έλλειψη συμφωνίας προβληματίζει τους ερευνητές και επιβάλλει την ανάγκη πιθανής ονοθεώρησης του ορίου της λευκοσπερμίας. Επίσης έχει γίνει πλέον γενικά αποδεκτό ότι θα πρέπει να χρησιμοποιείται ο αντικεμενικός τρόπος προσδιορισμού. Έτσι είναι πλέ-

ον αποδεκτή η υποκειμενική εκτίμηση των "πυοσφαιρίων". Είνα γαναγκαίος επίσης ο σαφής αντικειμενικός διαχωρισμός των κυττάρων της λευκής σειράς από τα άστρα κύπαρα της σπερματικής σειράς με συγκεκριμένη μεθοδολογία, όπως η ανοσοϊστοχημική μέθοδος ή η μέθοδος της υπεροξειδόσης. Η επιλογή μιας από τις δύο αυτές μεθόδους δίνει τη δυνατότητα του αντικειμενικού προσδιορισμού των λευκών, γιατί διαχωρίζει σαφέστατα τα κοκκώδη από τα άστρα κύπαρα (υπεροξειδάση) ή ακόμη και τον συγκεκριμένο τύπο κυττάρου (ανοσοϊστοχημεία).

#### Συσχέτιση των κυττάρων της λευκής σειράς με τα αποτελέσματα της εξωσωματικής γονιμοποίησης

Με την εφαρμογή των διαφόρων μεθόδων εξωσωματικής γονιμοποίησης έχει παράλληλα τεθεί ιο ερώτημα, εάν και κατά πόσο ο αύξηση στο σπέρμα του αριθμού των λευκών κυττάρων και ιδιαίτερα των ουδετερόφιλων πολυμορφοφούρων επηρεάζει δυσμενώς την έκβαση των εξωσωματικής γονιμοποίησης. Σε ορισμένες εργασίες θρέθηκε ότι η παρογήσια λευκών είναι αρνητικός προγνωστικός δείκτης του αποτελέσματος (18, 34, 35). Σε άλλη παρόμοια εργασία αναφέρεται ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των λευκών και της επιτυχίας της εξωσωματικής γονιμοποίησης, έτσι ώστε με αριθμούς λευκών πάνω από 6 εκ/ml η επιτυχία αυτή εμφανίζει σημαντική μείωση (36). Η εξήγηση του ευρήματος αυτού δεν αποδίδεται τόσο στη μείωση του κλασικών περαμέτρων του σπερμοδιαγράμματος, δύο στη μείωση της λεπτούργικότητας των σπερματοζωαρίων, όπως η μείωση της δυνατότητας για ενεργοποίηση (capacitation), για υπερδραστηριότητα της κινητικότητας (hyperactivation) και για την τελική επίτευξη της ακροσωματικής αντίδρασης με τελικό σκοπό τη γονιμοποίηση του ωαρίου (37).

#### Ποιος είναι πραγματικά ο ρόλος των κυττάρων της λευκής σειράς στο σπέρμα;

Πολύ πρόσφατα έχει αρχίσει συστηματική έρευνα και κριτική μελέτη σε διάφορα τελικά των πραγματικών ρόλων των λευκών στο σπέρμα (38, 39). Μάλιστα σε ένα πρόσφατο άρθρο των Aitken and Baker (40) οι συγγραφείς αναρωτιούνται με κιούμορ στον τίτλο του άρθρου, πώς πρέπει να χαρακτηρίσουν τα λευκά κύπαρα στο σπέρμα: ουδέτερα (passengers), θλαστικά (terrorists) ή μήπως ως έχοντα ευνοϊκή επίδραση στην ποιότητα του

σπέρματος και στη γονιμότητα "ως καλοί Σαμαρείτες" (good Samaritans)! Αλλάζει λοιπόν η παλαιά κλασσική θεώρηση ότι τα λευκά μέσα στο σπέρμα προκαλούν οπωδόποτε θλάβη. Πάνω σε αυτό το θέμα υπάρχουν πολλά και συγκρουόμενα δεδομένα (7, 33). Δίνεται επίσης έμφαση πλέον όχι τόσο στον πληθυσμό των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων κυπάρων, δύο στον πληθυσμό των δάφρων κυπάρων της σπερματικής σειράς, τα οποία μπορεί να ευθύνονται για τις αλλοιώσεις που παρατηρούνται σε ορισμένες παραμέτρους του σπέρματος (40).

Θα μπορούσε λοιπόν κανείς πάνω σε αυτό το θέμα να συμπεράνει τα εξής:

- 1) Η παρουσία λευκοσπερμίας δεν συνεπάγεται αναγκαστικά και δυσμενή επίδραση στην ποιότητα του σπέρματος.
- 2) Θεωρείται πλέον απαραίτητος από τους ερευνητές και τους κλινικούς ιατρούς ο αντικειμενικός ποσοτικός προσδιορισμός των λευκών στο σπέρμα με μια από τις δύο βασικές μεθόδους, δηλαδή τη μέθοδο της υπεροξειδάσης και τη μέθοδο που χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα.
- 3) Η μεγάλη αύξηση του αριθμού των λευκών και ιδιαίτερα των ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων στο σπέρμα, είναι βασικό διαγνωστικό κριτήριο παρουσίας λοιμώξης, όχι όμως αναγκαστικά και υπογονιμότητας.
- 4) Στην εξωσωματική γονιμοίση φαίνεται ότι η λευκοσπερμία αποτελεί δυσμενές προγνωστικό κριτήριο.
- 5) Μεγαλύτερη σημασία έχει η μελέτη του ρόλου όχι αυτού καθαυτότου λευκού κυπάρου, αλλά των προϊόντων του, όπως για παράδειγμα οι ελεύθερες ρίζες και οι κυτοκίνες, για τον ρόλο των οποίων έχει αρχίσει μια πολύ έντονη ερευνητική προσπάθεια σε διεθνές επίπεδο.

## Βιβλιογραφία

1. Yanushpolsky E H, Potitch JA, Hill J A and Anderson D J. Is leukocytospermia clinically relevant? *Fertil Steril*, 1996; 66(5): 822-825.
2. Comhaire F, Verschraegen G, Vermeulen L. Diagnosis of accessory gland infection and its possible role in male infertility. *Int J Androl*. 1980; 3: 32-45
3. Nieschlag E, Behre H M, Meschede D. Diseases of the seminal ducts. In *Andrology. Male Reproductive Health and Dysfunction*. Eds Nieschlag E, Behre HM. Springer, 1997.
4. Wolff H, Anderson D J. Immunohistologic characterization and quantitation of leukocyte subpopulation in human semen. *Fertil Steril* 1988; 49: 497-504.
5. Eggert - Kruse W, Bellmann A, Rohr G, Tilgen W, Runnebaum B. Differentiation of round cells in semen by means of monoclonal antibodies and relationship with male fertility. *Fertil Steril* 1992; 58: 1046-1055.
6. Aitken R J, West K., Buckingham D. Leukocytic infiltration in the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress and sperm function. *J Androl* 1994; 15: 343-352.
7. Tomlinson M J, Barratt C L R, Cooke I D. Prospective study of leukocytes and leukocyte subpopulations in semen suggests they are not a cause of male infertility. *Fertil Steril* 1993; 60: 1069-1075.
8. World Health Organization (WHO) laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
9. Potitch J A., Wolff H, Hill JA, Anderson D J. Comparison of methods to enumerate white blood cells in semen. *Fertil Steril* 1993; 60 (2): 372-375.
10. Couture M, Ulstein M, Leonard J, Paulsen JR. Improved staining method for differentiating immature germ cells from white blood cells in human seminal fluid. *Andrologia* 1976; 8: 61-66.
11. Jochum M, Papst W, Schill W.B. Granulocyte elastase as a sensitive diagnostic parameter of silent male genital tract inflammation. *Andrologia* 1986; 18: 413-419.
12. Wolff H, Anderson DJ. Evaluation of granulocyte elastase as a seminal plasma marker for leukocytospermia. *Fertil Steril* 1989; 50: 129-132.
13. Wolff H, Panhans A, Zebhauser M, Meurer M. Comparison of three methods to detect white blood cells in semen: Leukocyte esterase dipstick, granulocyte elastase enzymeimmunoassay, and peroxidase cytochemistry *Fertil Steril* 1991; 58 (6): 1260-1261.
14. Wolff H. The biologic significance of white blood cells in semen. *Fertil Steril* 1995; 63 (6): 1143-1157.
15. El-Demiry MIM, Young H, Elton RA, Hargreave TB, James K, Chisholm G D. Leucocytes in the ejaculate from fertile and infertile men. *Br J Urol* 1986; 58: 715-720.
16. Harrison PE, Barratt CLR, Robinson AJ, Kessopoulou E, Cooke ID. Detection of white blood cell population in the ejaculate of fertile men. *J Reprod Immunol* 1991; 19: 95-98.

17. Schobel WA, Scheiferstein G, Uchanska - Ziegler B. Immunocytochemical characterization of round cells in human semen using monoclonal antibodies and the APAAP - technique. *Andrologia* 1989; 21: 370-376.
18. Endtz AW. Een methode om het vochtig urinesediment en het vochtige mannelijke sperma rechtstreeks te kleuren. *Ned Tijdschr Geneeskd* 1972; 116: 681-684.
19. Nahoum C R D, Cardozo D. Staining for volumetric count of leukocytes in semen and prostate - vesicular fluid. *Fertil Steril* 1980; 34(1): 68-69.
20. Talbert L M, Hammond M G, Halme J, O'Rand M, Fryer J G, Ekstrom R.D. Semen parameters and fertilization of human oocytes in vitro: a multivariable analysis. *Fertil Steril* 1987; 48: 270-277.
21. Gonzales GF, Kortebani G, Mazzoli A.B. Leukocytospermia and function of the seminal vesicles on seminal quality. *Fertil Steril* 1992; 57: 1058-1065.
22. Wolff H, Politich J A, Martinez A, Haimovici F, Hill J A, Anderson D J. Leukocytospermia is associated with poor semen quality. *Fertil Steril* 1990; 53: 528-536.
23. Berger R E, Karp L E, Williamson R A, Koehler J, Moore D A, Holmes K K. The relationship of pyospermia and seminal fluid bacteriology to sperm function as reflected in the sperm penetration assay. *Fertil Steril* 1982; 37: 557-564.
24. Maruyama K, Hale R W, Rogers B J. Effects of white blood cells on the vitro penetration of zona - free hamster eggs by human spermatozoa. *J Androl* 1985; 6: 127-135.
25. Vogelpoel F R, van Kooij R J, te Velde E R, Verhoef J. Influence of polymorphonuclear granulocytes on the zona-free hamster oocyte assay. *Hum Reprod*. 1991; 6: 1104-1107.
26. Chacho KJ, Andersen PJ, Scommegna A. The effect of peritoneal macrophage incubates on the spermatozoa assay. *Fertil Steril* 1987; 48: 694-696.
27. Gavella M, Lipovac V. Effect of leukocytes on the hypoosmotic swelling test of human sperm. *Arch Androl* 1993; 30: 55-61.
28. Chan PJ, Su BC, Tedway DR, Whitney EA, Pang S C, Corselli I, Jacobson J D. White blood cells in semen affect hyperactivation but not sperm membrane integrity in the head and tail regions. *Fertil Steril* 1994; 61: 986-989.
29. Auoux M, Collin C, Couvillers ML. Do nonspermatozoal cells mainly stem from spermiogenesis? Study of 106 fertile and 102 subfertile men. *Arch Androl* 1985; 14: 73-80.
30. Wang A W, Politich J, Anderson DJ. Leukocytospermia in male infertility patients in China. *Andrologia* 1994; 26: 167-172.
31. Kung A W C, Ho PC, Wang C. Seminal leukocyte subpopulations and sperm function in fertile and infertile Chinese men. *Int J Androl* 1993; 16: 189-194.
32. Tomlinson M J, Barratt CLR, Bolton AE, Lenton EA, Roberts HB, Cooke I D. Round cells and sperm fertilizing capacity; the presence of immature germ cells but not seminal leucocytes are associated with reduced success of in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1992; 58: 1257-1259.
33. Tomlinson MJ, White A, Barratt CLR, Bolton AE, Cooke ID. The removal of morphologically abnormal sperm forms by phagocytes: a positive role for seminal leukocytes? *Human Reprod* 1992; 7/4: 517-522.
34. Harisson PA, Barrat CLR, Robinson AJ, Kessopoulou E, Cooke ID. Detection of white blood cell populations in the ejaculate of fertile men. *J Reprod Immunol* 1991; 19: 95-98.
35. De Geyter C, De Geyter M, Behre HM, Schneider HPG, Nieschlag E. Peroxidase - positive cells and microorganisms in human semen together with antibiotic treatment adversely influence the outcome of in-vitro fertilization and embryo transfer. *In J Androl* 1994; 17: 127-134.
36. Cohen , Edward R, Fehilly C, Fishel S, Hewitt J, Purdy J. In vitro fertilization: a treatment for male infertility. *Fertil Steril* 1985; 43: 422-432.
37. Sukcharoen N, Keith J, Irvine D S, Aitken J. Predicting the fertilizing potential of human suspensions in vitro: importance of sperm morphology and leukocyte contamination. *Fertil Steril* (1995; 63(6): 1293-1300.
38. Barratt CLR, Bolton AE, Cooke ID, Functional significance of white blood cells in the male and female reproductive tract. *Human Reprod* 1990; 5(6): 639-648.
39. Anderson DJ. Should male infertility patients be tested for Leukocytospermia? *Fertil Steril* 1995; 63: 246-248.
40. Aitken RJ, Baker GHW. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good Samaritans? *Human Reprod* 1995; 10/7: 1736-1739.