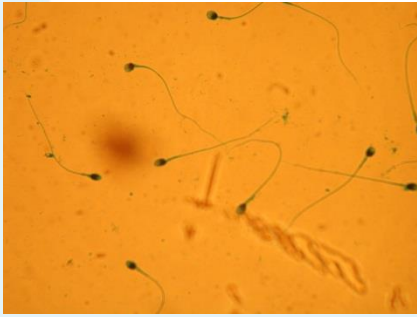


POKROČILÉ METÓDY VYŠETROVANIA SPERMIÍ

I. ČERNÁKOVÁ

Workshop RGI
Bratislava 1.3.2018



Spermigram - základný

(WHO 2010)

Objem	> 1,5 ml
Koncentrácia	> 15 mil/ml
Pohyblivosť	> 40 %
Progresívna pohyblivosť	> 32 %
Morfológia	> 4% normálnych spermií
Likvifikácia	do 30 min
pH	≥ 7,2
Leucocyty	< 1 mil/ml Leu
Vitalita	> 58% živých spermií
Protilátky proti spermiám	IgA, IgG



Poruchy spermií

Poruchy otcovského imprintingu

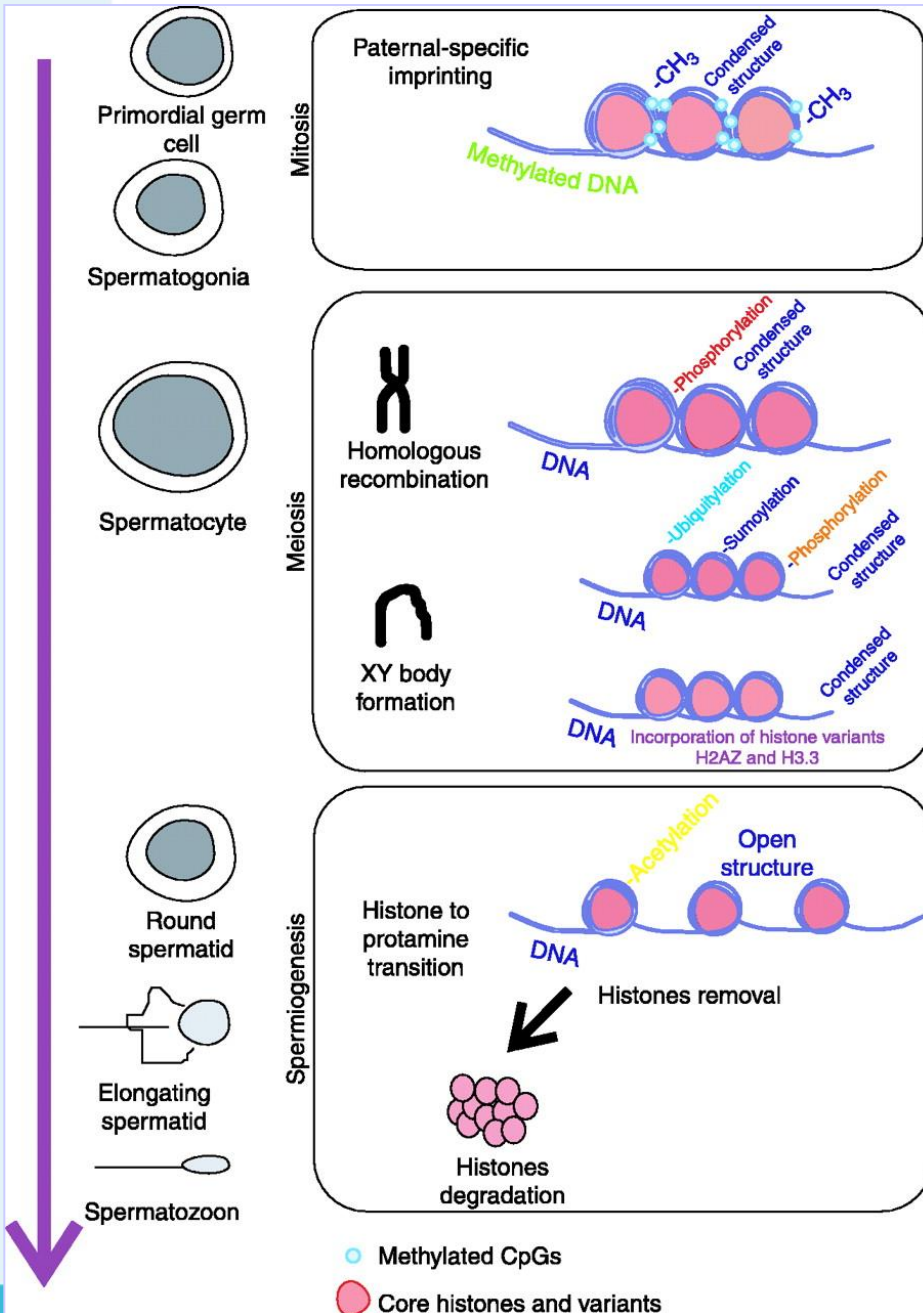
Chromozómové anomálie

Morfologické anomálie

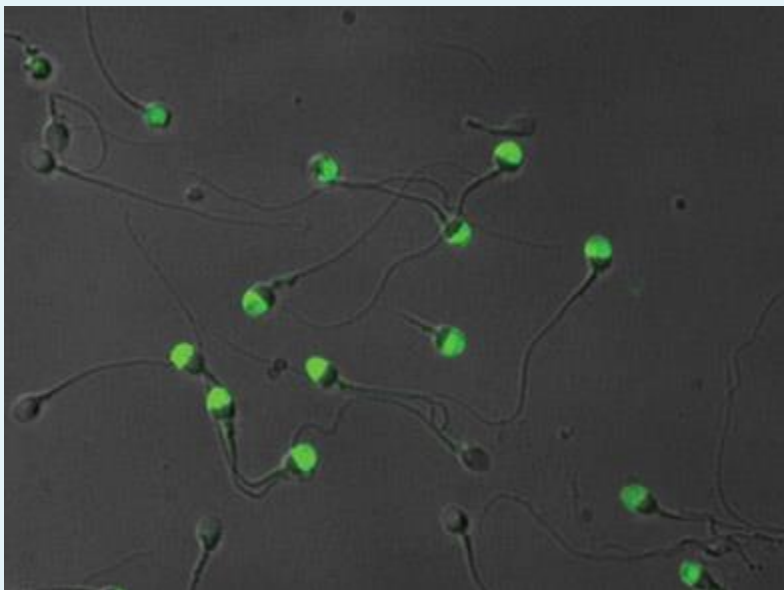
Znížená vitalita (*nedostatočná funkcia mitochondrií*)

Zvyšky cytoplazmy

Znížený obsah/neprítomnosť protamínov



Integrita akrozómu



Normálny akrozóm



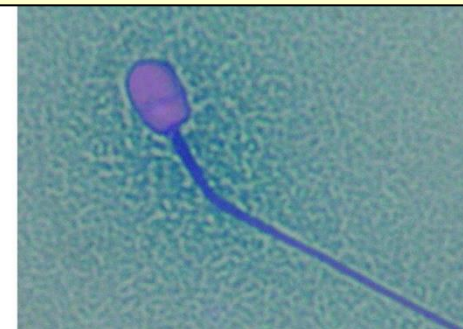
Patologický akrozóm



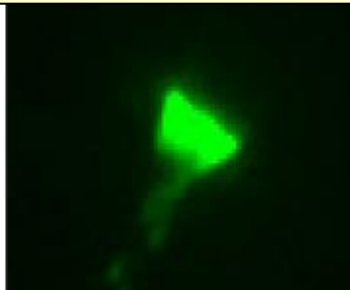
Malý akrozóm



Chýbajúci akrozóm



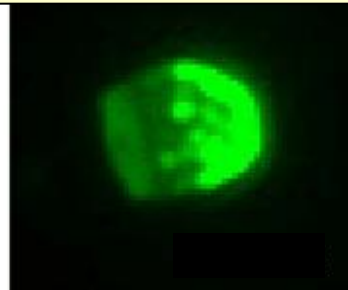
Intaktný akrozóm



Intermediárne poškodenie

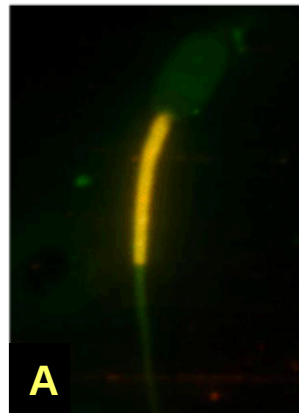


Úplné poškodenie

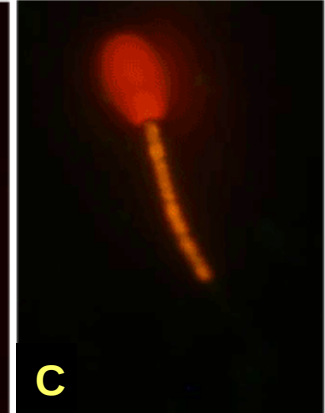
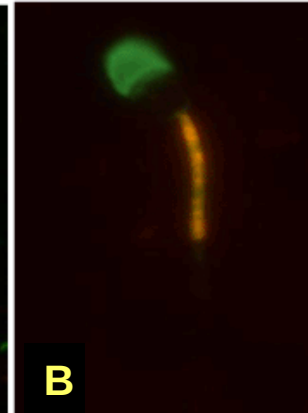


Akrozóm a mitochondriálny membránový potenciál

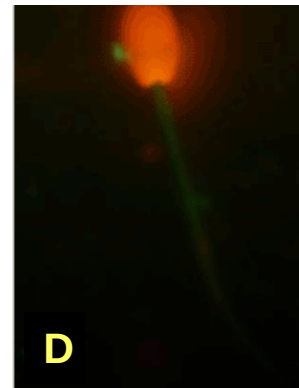
A. Intaktná plazmatická a akrozómová membrána, vysoký mitochondriálny potenciál



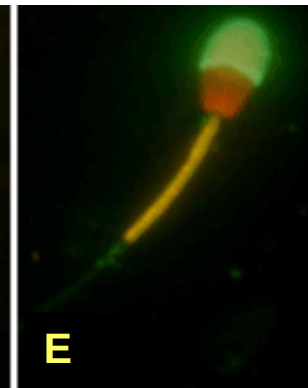
B. Intaktná plazmatická membrána, poškodený akrozóm, vysoký mitochondriálny potenciál



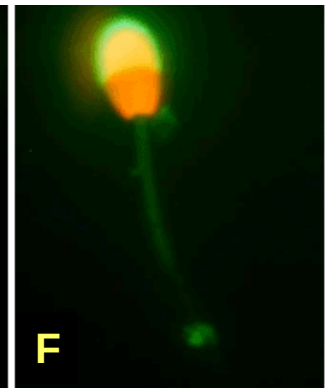
C. Poškodená plazmatická membrána, intaktný akrozóm, vysoký mitochondriálny potenciál



D. Poškodená plazmatická membrána, poškodený akrozóm, nízky mitochondriálny potenciál



E. Poškodená plazmatická a akrozómová membrána, vysoký mitochondriálny potenciál

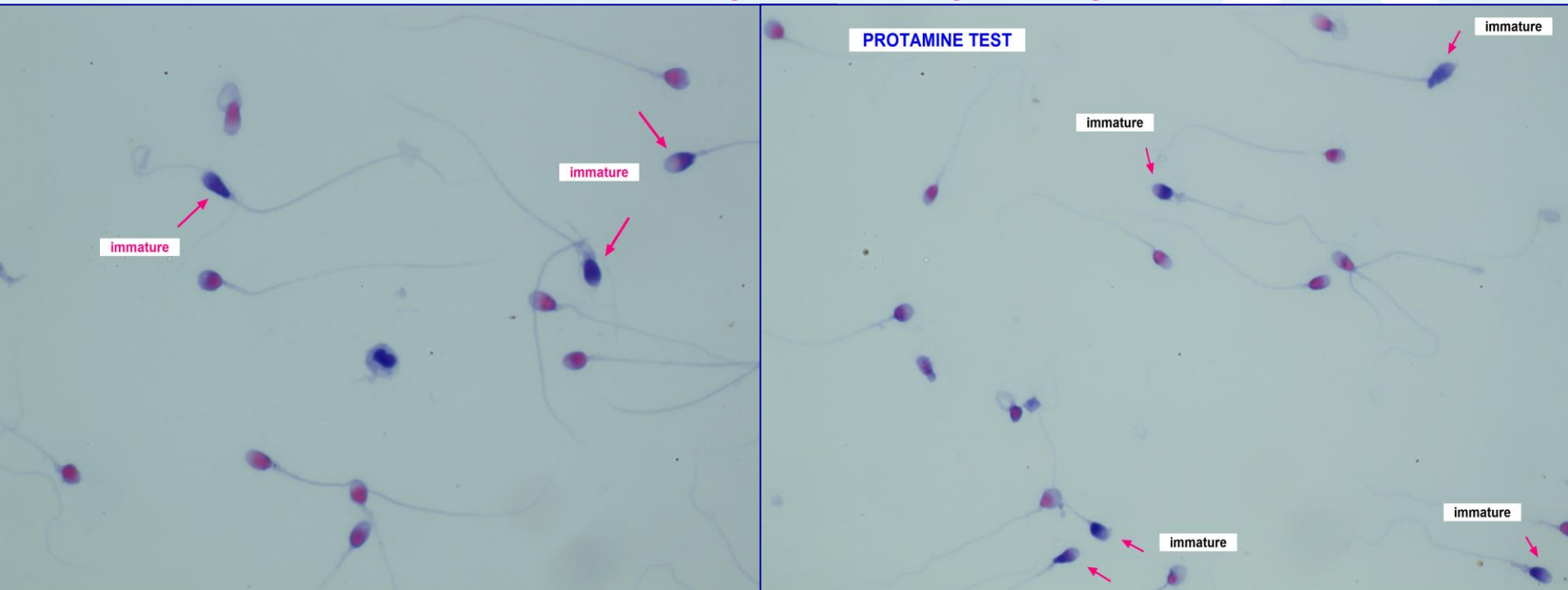


F. Poškodená plazmatická a akrozómová membrána, nízky mitochondriálny potenciál

ProtamineSperm test

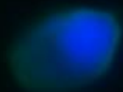
Vyšetrenie prítomnosti protamínov v chromatóne spermii

- Morfológia < 4%
- Neplodnosť
- Spontánne potraty

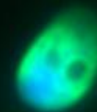


FragmentSperm

Fragmentácia DNA spermií



Normálna spermia



Spermia s fragmentovanou DNA

Priame vyšetrenie poškodenia DNA
(ssDNA a dsDNA zlomy) TUNEL metódou

NEZÁVISLÝ PROGNOTICKÝ

FAKTOR pre stanovenie kvality
spermií vo vzťahu k MUŽSKEJ

NEPLODNOSTI

**Až 20% mužov s normálnym SPG
má fragmentovanú DNA!**

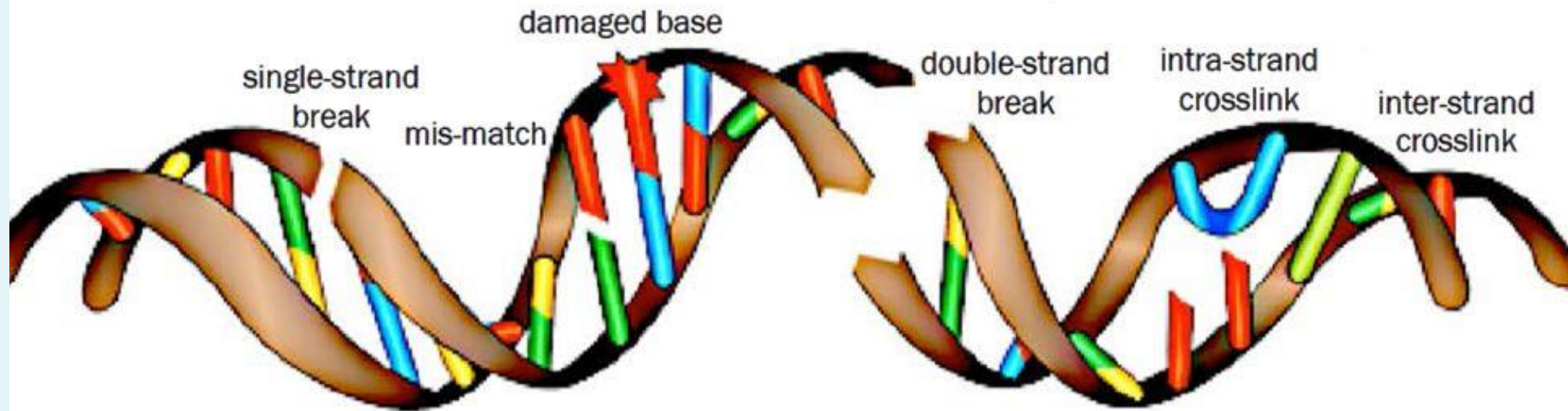
Defects in Sperm DNA Structure

Single-strand DNA break (ss-DB)

Double-strand DNA break (ds-DB)

Base deletion or modification

Inter or intra-strand cross linkage



Esteves et al 2013; Alvarez and Gosálbez 2011; Ward 2011

A microscopic image showing numerous sperm cells. The heads of the sperm are stained with a fluorescent dye, appearing in various colors like red, green, and blue, against a dark brown background. Some sperm have long, thin tails visible.

Do 15 % - normálna hladina

> 15 % - IUI

> 20 % - IVF/ICSI

> 30 % - malá pravdepodobnosť

spontánnych gravidít

Indikácie - Fragmentácia DNA v spermiách

Muži s OAT + Muži s normálnym SPG



idiopatická infertilita (normálny SPG)

opakovane neúspešné IVF cykly: **neoplodené oocyty**
 nedeliace sa embryá
 fragmentácia embryí
 bez klinickej gravidity

spontánne potraty

biochemická gravidita

muži starší ako 40 rokov

expozícia toxickými látkami/liekmi

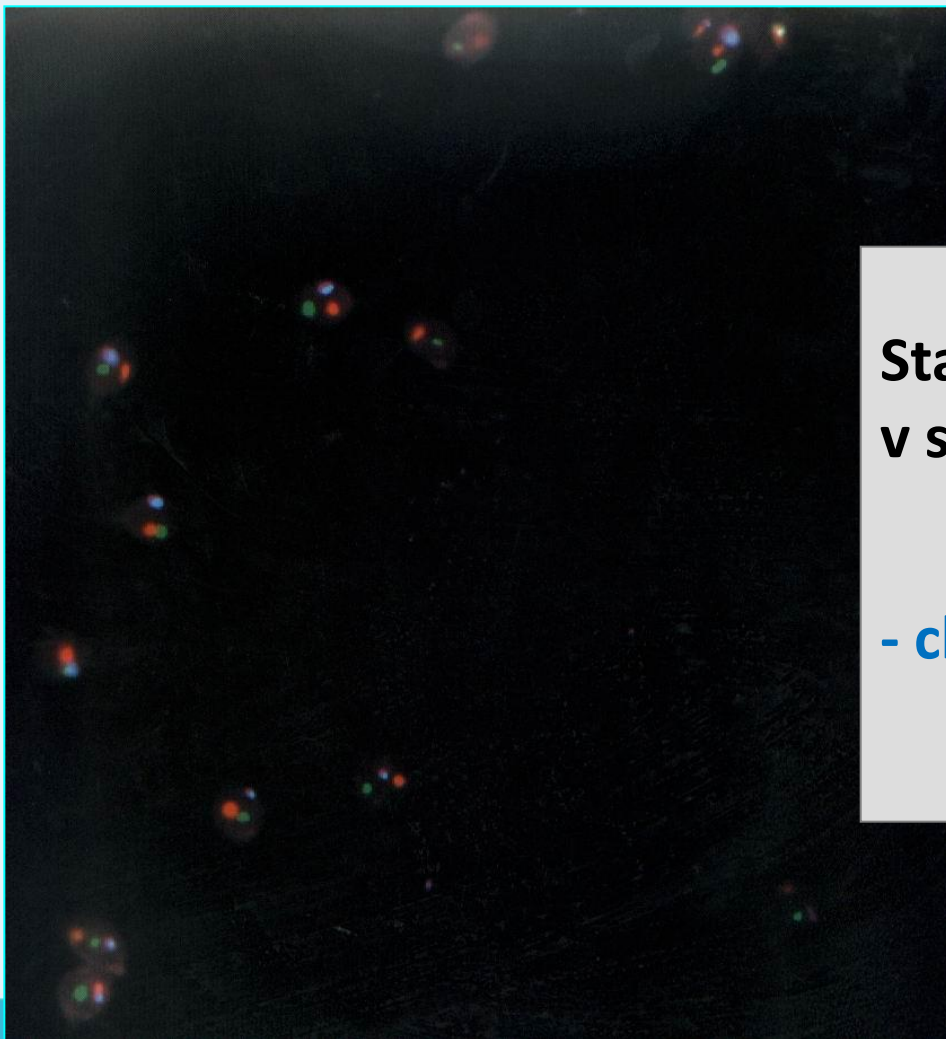
fajčiari

infekcie (*Ureaplasma*, *Chlamydia*), zápalové ochorenia



AneuSperm

FISH vyšetrenie karyotypu spermií – chromozómové aneuploidie

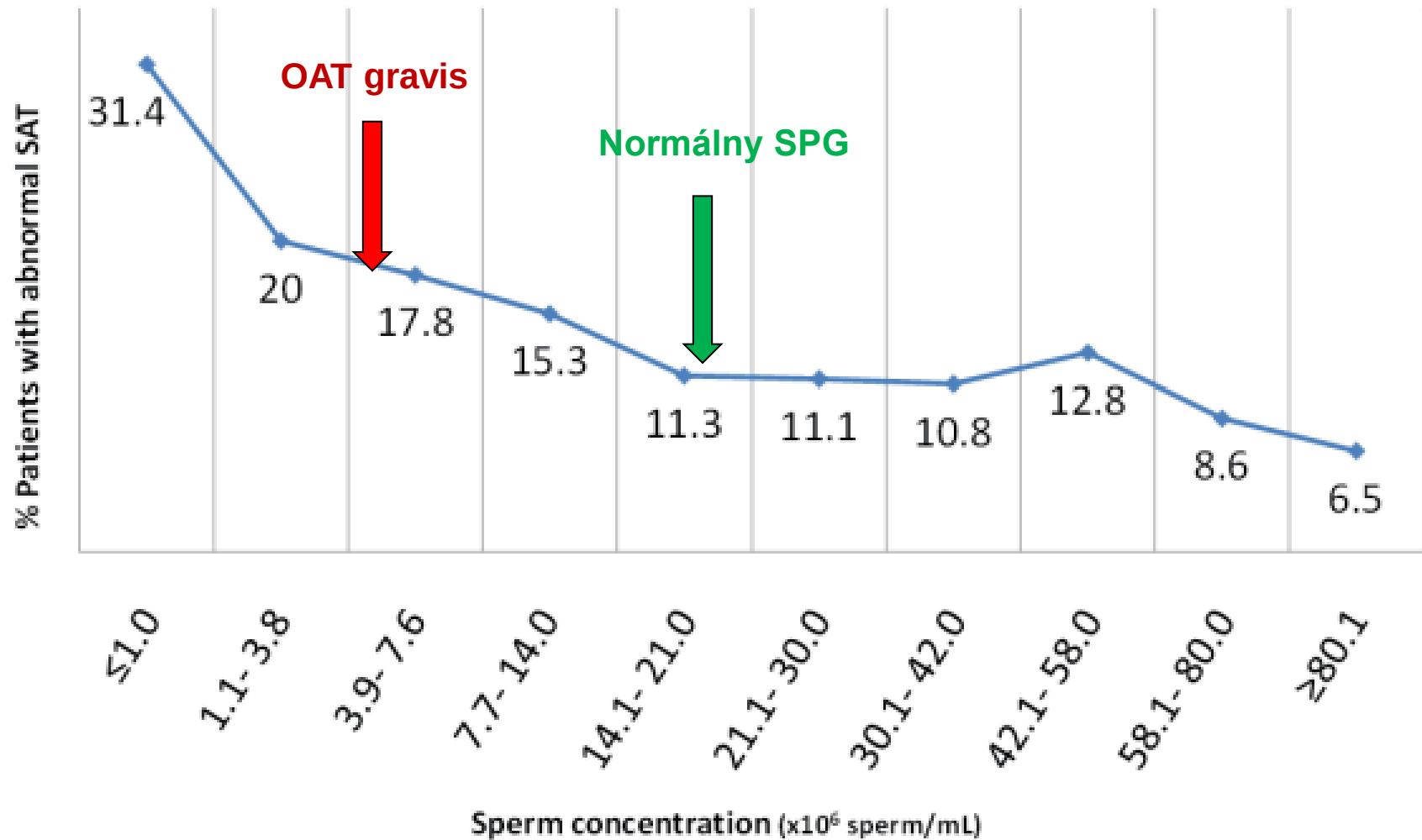


Stanovenie hladiny aneuploidie
v spermiách

- chromozómy 13, 18, 21, X a Y



Effect of sperm concentration on the outcome of SAT



Unpublished IVI data



Prejavy aneuploidie v spermiách

Embryá: aneuploidia embryí
triploidia embryí

Gravidity: zníženie PR (úspešnosti) IVF-ICSI
zvýšená frekvencia spontánnych potratov

Narodené deti: zvýšenie rizika narodenia potomstva s aneuploidiou



Identifikácia mužov s nízkou reprodukčnou úspešnosťou



Personalizovaná genetická konzultácia infertilného páru vzhľadom k IVF liečbe

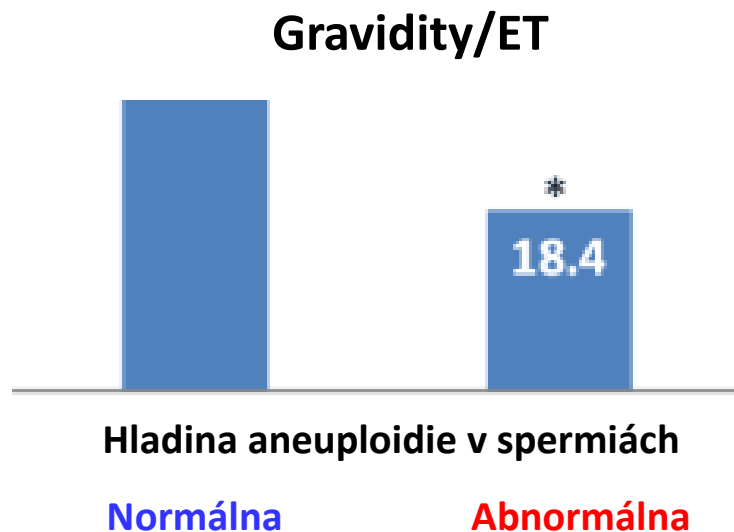
Preimplantačná genetická diagnostika aneuploidie s cieľom

- zvýšenia úspešnosti IVF liečby
- zníženia rizika spontánneho potratu

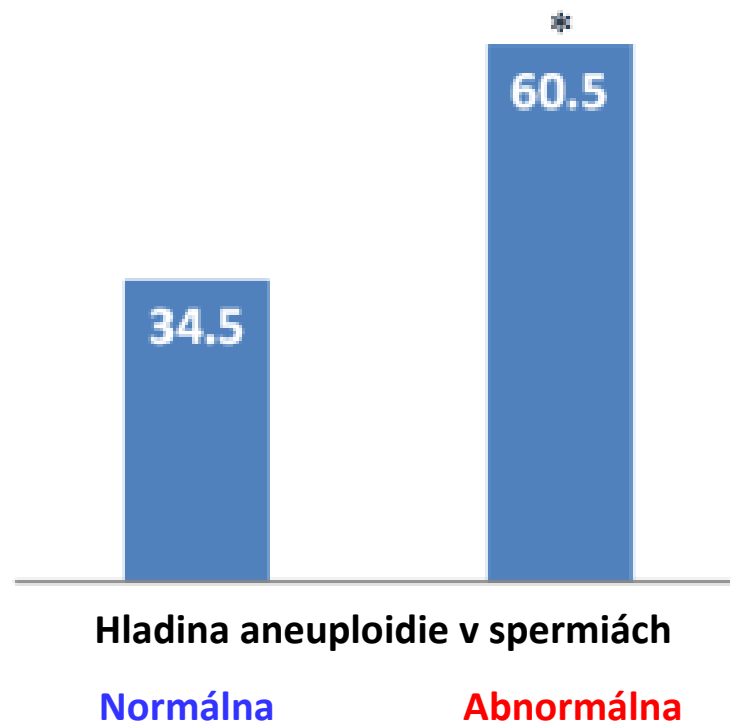


Vplyv aneuploidie spermií na úspešnosť IVF a výskyt spontánnych potratov

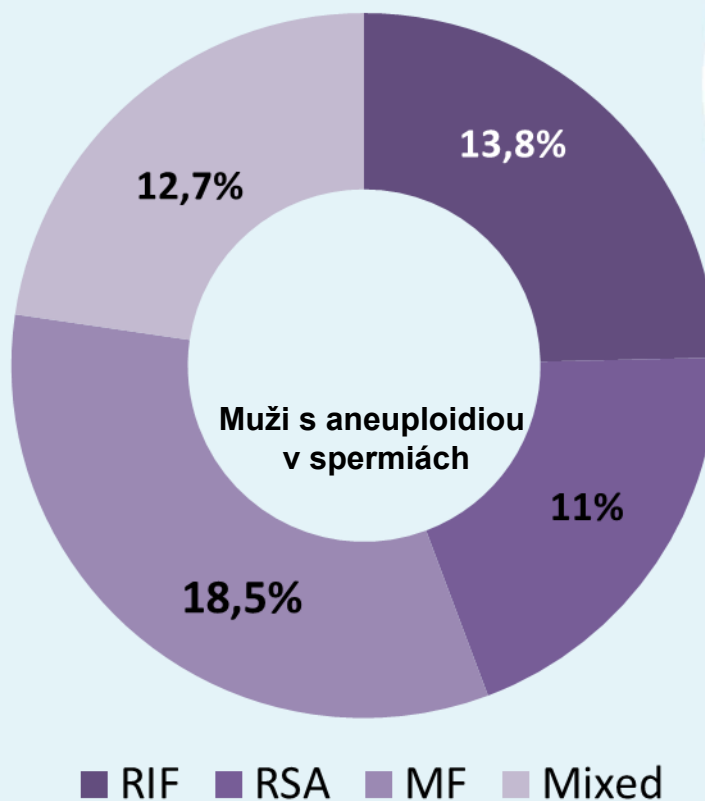
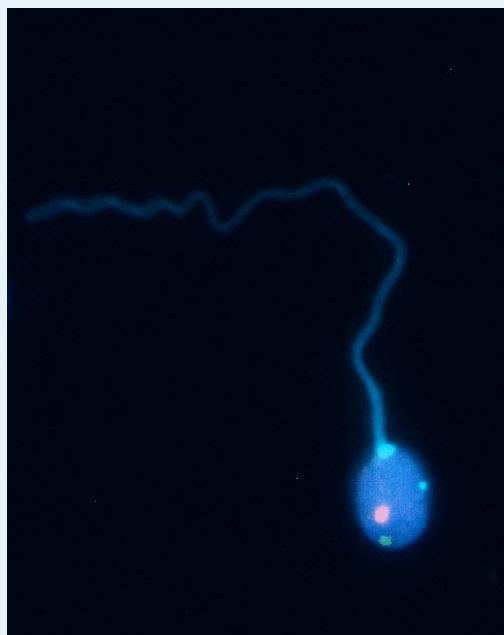
Gravidity/ET



Spontánne potraty (%)



Percentuálne zastúpenie pacientov s aneuploidiou v spermiách podľa indikácie



60%

**gravidít sa potráca u párov s abnormálnou
hladinou aneuploidie v spermiách**



Indikácie - AneuSperm

Muži s OAT

+

Muži s normálnym SPG



Opakovane neúspešné IVF cykly: nedeliace sa embryá
fragmentácia embryí
bez klinickej gravidity

Opakované spontánne potraty s normálnym karyotypom partnerov

Opakované spontánne potraty – translokácia u jedného z rodičov

Expozícia chemickými látkami/liekom

Chemoterapia, rádioterapia



Preimplantačná genetická diagnostika

Darcovstvo spermií



Ďakujeme za pozornosť

Genetické laboratórium ReproGen

ReproGen International s.r.o.

Bratislava

Tel: 0948 230 661

0918 859 976

www.reprogen.sk

