

## EXAME DO LIQUIDO SEMINAL

DR. MARIO LEPOLARD ANTUNES (\*)

A importância de exame de líquido seminal, demonstrada cabalmente pelo seu valor clínico na investigação da fecundidade do homem e a má divulgação de ensinamentos sobre o assunto em tratados clássicos, nos levaram ao estudo do problema, procurando estandarizar os laudos de análises fornecidos aos clínicos e tornar melhor conhecida a técnica do exame e a sua interpretação.

Somente nos últimos anos é que o marido foi incluído na responsabilidade da esterilidade de um casal, sendo recente a bibliografia a respeito. Na literatura brasileira apenas encontramos três contribuições (6, 31, 36). SEGRE, estudando as causas e o tratamento da esterilidade, faz uma detalhada descrição das alterações qualitativas e quantitativas do líquido seminal, CORDEIRO ressalta o papel orientador do exame do esperma. MORAIS, VIÉGAS e RUBIÃO descrevem a técnica para o exame e os resultados obtidos em 30 rapazes solteiros.

A esterilidade é na grande maioria das vezes considerada como um problema puramente ginecológico, sendo quasi sempre o exame do marido superficial e inadequado, quando não o é inteiramente desdenhado pelo fato de se tratar de um homem potente, já se tendo constatado a presença de espermatozoides vivos.

A presença de espermatozoides moveis não constitue por si só uma prova satisfatória para eliminar a culpabilidade do marido na esterilidade conjugal. O valor fertilizante do esperma é dado por uma série de caracteres que devem ser estudados em seu conjunto, e não apenas por um fator isoladamente.

A responsabilidade do marido na esterilidade de um casal é tão grande quanto à da mulher. Alguns autores afirmam que em 30% dos casos a infertilidade é devida ao homem KLEGMAN

---

(\*) Chefe do laboratório da Casa Maternal e da Infância "D. Leonor Mendes de Barros" da L. B. A. (Diretor clínico: Dr. João Amorim). — Trabalho publicado na Revista "Maternidade e Infância".

(16), MEAKER e VOSE (25), enquanto outros apresentam a cifra de 40%, MAZER e ISRAEL (23).

O ejaculado humano é uma mistura de espermatozoides e de secreções glandulares (do epidídimo, vesículas seminais, próstata e glandulas acessórias da uretra) onde se encontram os elementos nutritivos para os gametos masculinos, sendo a glicose o mais

— x —

**Colheita do material para exame:** o método de colheita é de máxima importância para garantir exames uniformes entre os vários pesquisadores, e aqui reside, a nosso ver, a maior soma de erros e confusões no diagnóstico do valor do material examinado.

Ao tratar do presente assunto a primeira idéia que surge à mente é a de obter a ejaculação o mais próximo possível dentro das condições em que se realiza normalmente. Assim é que vários AA. indicam o uso do preservativo de borracha previamente bem limpo, sendo logo após o coito, transferido o material para um recipiente de vidro bem limpo. Os ingredientes utilizados na confecção desse preservativo são hostís à vida dos espermatozoides, prejudicando assim a verificação da motilidade dessas células (10) e também pela aglutinação que se observa nos espermatozoides altera a contagem daqueles elementos, por não permitir uma perfeita diluição (11), além de alterar o volume do líquido seminal pela impossibilidade de transferir todo conteúdo do preservativo para o tubo de vidro.

Maiores inconvenientes apresenta ainda a indicação de vários tratadistas (17, 19, 33) para a colheita em condom, sendo depois do coito o preservativo amarrado cuidadosamente e envolvido em um lenço, para ser transportado ao laboratório sob às vestes, junto à pele, para manter uma temperatura próxima à do corpo. Com esta indicação, aliamos à nocividade dos ingredientes do preservativo, o efeito prejudicial da temperatura alta.

Na impossibilidade da utilização dos métodos acima apontados, pelas causas de erro referidas, poderíamos indicar o "coitus interruptus", mas os riscos de perdermos o primeiro játo do ejaculado são grandes, pela série de manobras que o indivíduo tem de fazer, ao tentar colher o material no recipiente de vidro que previamente lhe foi fornecido, e é justamente na primeira parte do ejaculado que se encontram o maior número dos espermatozoides.

MacLEOD e HOTCHKISS (21) fazendo estudos em 10 homens jovens e normais, de modo que na colheita do material, a primeira porção do ejaculado fosse recolhida em recipiente diferente do da segunda porção, puderam concluir que 75% dos espermatozoides se encontram nos primeiros 40% do ejaculado, onde as células apresentam uma motilidade mais vigorosa e de tipo progressivo.

Além disso a colheita assim realizada poderá acarretar um pouco de secreção vaginal, que "in vitro" reduz a atividade das células sexuais masculinas, como afirma BROWN (3) em estudos cuidadosamente controlados.

Somos então obrigados a preferir o método de colheita do esperma pela masturbação, que poderá ser realizada no próprio laboratório.

A manipulação auto-erótica num ambiente pouco adequado como o laboratório é as vezes impossível. O mecanismo da ejaculação é extremamente complicado, dependendo a excitação sexual não só de fatores psicológicos, como de um perfeito equilíbrio hormonal. Os estímulos sexuais variam muito, sendo de grande valor as imagens psíquicas, tanto maior quanto mais elevada a cultura do indivíduo que se submete ao exame. A ereção depende de uma ação reflexa e não pode ser causada diretamente por nenhum esforço voluntário. Assim sendo, a masturbação realizada fóra do laboratório, eventualmente com o auxílio de uma companheira, num ambiente agradável ao indivíduo, permite que o libido seja maior, colhendo-se u'a amostra quantitativa e qualitativamente boa. Este deve ser o método eletivo para a colheita do material destinado ao exame.

BELDING (1) estudou comparativamente a colheita manual do material e em preservativo de borracha, concluindo pela ausência de influência sobre o volume total do líquido espermático.

As amostras devem ser colhidas diretamente em tubos de vidro de boca larga, perfeitamente limpos e esterilizados, tampoados com rolha de cortiça, que devem ser fornecidos pelo laboratório, para impedir que o paciente utilize recipientes muitas vezes inadequados.

Uma vez colhido o material, este deve permanecer em temperatura ambiente, entre 15° a 20° C. e nunca ser guardado à temperatura do corpo ou em temperaturas mais altas, pois os espermatozoides, pelo aumento do metabolismo, se exaurem em curto espaço de tempo.

Assim condicionado, deverá ser conduzido ao laboratório dentro de 2 horas no máximo, quando deverá ter início a análise do semen.

A necessidade de esterilização do material é evidenciada pela ação deletéria das bactérias. A ação do ar ambiente não tem efeito demonstrável.

Para que a colheita do líquido seminal se realize em condições boas, o paciente deve observar um repouso sexual de alguns dias, no mínimo de 3, como aconselha HOTCHKISS (12) para que não falhe a tentativa da masturbação, como também para que promova uma maior uniformidade das amostras.

A existência de coitos recentes ou poluções, influem de modo acentuado sobre o volume e o número das células espermáticas. Estudando o reenchimento do reservatório de espermatozoides no homem, EXNER, citado por TALIBERTI (38), julga necessário 48 horas para que o mesmo se realice. Para este autor uma segunda ejaculação, numa mesma noite, reduz para a metade o número de espermatozoides encontrados na primeira, enquanto que numa terceira sessão o homem se torna esteril, pela ausência de espermatozoides no líquido seminal.

Devemos ainda ter a nossa atenção voltada para enfermidades recentes pela ação nociva que as mesmas podem exercer sobre a capacidade espermatogênica. Uma vez desaparecida a causa determinante da alteração da saúde, a volta ao normal se processa de um modo lento (12).

Havendo recusa do paciente em colher o material ou não sendo possível nos casos de "impotência coeundi" e sendo útil o estudo dos espermatozoides, podemos lançar mão da massagem das vesículas seminais, da colheita instrumental, sobretudo nos casos de importância médico-legal.

**Exame macroscópico: aspecto:** o líquido seminal recentemente ejaculado tem uma consistência gelatinosa, tendo lugar dentro de pouco tempo (10 a 15 minutos) uma auto-liquefação, que se processa mesmo em temperatura ambiente, não se devendo apressá-la pela elevação da temperatura a 37° C., resultando um líquido mais fluído, homogêneo, podendo então ter início os demais exames.

Quando o esperma apresenta-se fluído desde o momento de sua colheita, indica a sua pobreza no conteúdo celular, sem com isso se afirmar que todo o líquido seminal com reduzido número de espermatozoides se apresente sem a sua consistência normal.

**Viscosidade:** para se ajuizar a viscosidade do material em exame, HOTCHKISS (13) recomenda o simples método de CARY, tomando uma pequena porção de esperma entre o indicador e o polegar.

Tem-se uma idéia da viscosidade pela imersão de um bastão de vidro dentro do esperma no tubo de vidro, e apreciando o tamanho das gotas do líquido, no momento da retirada do bastão, e a tenacidade das mesmas.

A viscosidade será expressa de modo arbitrário, como normal, aumentada ou diminuída.

Apresenta maior significado clínico o aumento da viscosidade, acarretando uma menor motilidade dos espermatozoides, pois encontrando um meio mais denso, êles utilizam maiores energias para se locomoverem, esgotando-se facilmente. A causa destas variações nem sempre pôde ser reconhecida, responsabilizando-se em certos casos uma drenagem deficiente das secreções glandulares.

**Côr:** o esperma normal apresenta uma côr branco-opalescente; nas abstinências sexuais prolongadas pôde assumir uma côr ligeiramente amarelada.

As alterações patológicas de coloração geralmente são devidas ao sangue, frequentemente resultado de inflamação aguda ou crônica da uretra posterior.

**Reação:** a determinação aproximada do pH pôde ser realizada por uma reação corada, com papel de Nitrazine. Normalmente, varia de 7,1 a 8,9 (11), com a média de 8,2. As variações observadas são mínimas e sua determinação é desnecessária quando a motilidade das espermatozoides é satisfatória. BAKER, citado por HOTCHKISS, demonstrou que os espermatozoides morrem no pH igual a 5, sendo mínima a motilidade quando o pH se encontra entre 6 a 6,9.

**Volume:** a medida do volume total do ejaculado é a parte mais importante do exame macroscópico, podendo ser avaliado num tubo graduado.

O volume do esperma é diretamente dependente das secreções glandulares e do estado em que se encontram as vias excretoras. A proporção das células no volume total do líquido espermático é mínima.

A quantidade normal varia de 3 a 4 cc. (7, 11, 34), podendo oscilar desde algumas gotas até 10 cc. As pequenas quantidades geralmente são patológicas, enquanto que as maiores não o são.

Ao julgarmos as cifras fornecidas pela medida do volume do líquido seminal, devemos sempre lembrar a possibilidade de perdas acidentais no ato da colheita do material, ou da não observância da devida abstinência, causas de êrro que logo poderemos afastar por um habil interrogatório do paciente.

**Exame microscópico:** constitue a parte mais importante do exame do líquido seminal, pois somente da sua conclusão podemos obter dados para a interpretação do valor fertilizante da amostra em estudo.

**Motilidade dos espermatozoides:** para a verificação da motilidade dos espermatozoides examinamos uma preparação úmida, colocando uma gota do líquido seminal entre lamina e lamínula, utilizando um microscópio com um aumento médio (aumento de cerca de 400 diâmetros). O exame deverá ser feito após a liquefação do ejaculado, o que se dá dentro de 30 a 60 minutos, e antes que se complete 3 horas da emissão.

A descrição do que observamos ao microscópio é difícil de ser feita, fazendo HOTCHKISS (13) uma feliz comparação com uma população de uma cidade, onde observamos os jovens e os imaturos, os tipos com grande agilidade e os preguiçosos, os malformados, os velhos e os mortos.

Estabelecemos então a porcentagem dos elementos vivos realizando uma contagem dos espermatozoides móveis e depois dos imóveis. Como normalmente a motilidade observada é grande, percorrendo cada espermatozoide, em um minuto, uma extensão equivalente a cerca de 400 vezes o seu comprimento, podemos utilizar o artifício de reduzir o campo microscópico com um pequeno disco de papel negro colocando na ocular, onde se fez uma abertura permitindo a visibilidade de um quadrante. Não há necessidade de realizar uma contagem com a precisão dos problemas aritméticos, não sendo mesmo esse o objetivo das pesquisas clínicas. Os números obtidos são multiplicados por 4 para se obter o resultado no campo microscópico inteiro.

Normalmente devemos observar no mínimo 70% de células móveis, oscilando geralmente entre 75 a 85% os espermatozoides ativos (7, 8, 9, 15, 19, 37). A porcentagem de motilidade nos é dada pelo número de células móveis em relação ao número total de células vistas em cada campo microscópico.

HOTCHKISS (11) expressa a motilidade em “graus”, do seguinte modo:

% motilidade	gráu	% motilidade	gráu	% motilidade	gráu
0 %	0	35 %	2	70 %	3
5 %	— 1	40 %	2	75 %	+ 3
10 %	— 1	45 %	2	80 %	+ 3 ou — 4
15 %	1	50 %	+ 2	85 %	— 4
20 %	+ 1 ou — 2	55 %	+ 2	90 %	4
25 %	— 2	60 %	+ 2 ou — 3	95 %	+ 4
30 %	— 2	65 %	— 3		

A média da motilidade encontrada por este A. em 202 amostras foi do grau 3, com exames realizados dentro das primeiras três horas.

O tipo de motilidade poderá ser ajuizado de acôrdo com grau de atividade:

Gráu 0 — ausência de atividade

Gráu 1 — preguiçosa

Gráu 2 — póbre

Gráu 3 — bôa, progressiva

Gráu 4 — excelente.

Os graus de motilidade pôdem ser expressos como normo, hipo, hipercinesia.

Quando não observamos a presença de espermatozoides, na preparação úmida em exame, devemos repetir a operação com o centrifugado do líquido seminal: se ainda assim não forem vistos espermatozoides, estará indicado uma exame em preparação coradas, antes de se poder falar em azoospermia, afirmação de grande responsabilidade para o médico que a faz.

Algumas vezes poderemos encontrar todos os espermatozoides imóveis, condição aliás rara, expressa pelo termo de necrospermia.

MacLEOD demonstrou que em muitos casos trata-se de uma falsa necrospermia, pois em certas circunstâncias, pôdem



exibir uma motilidade pela adição de alguma substância de que os espermatozoides pudessem estar privados, como por exemplo, a glicóse.

O líquido seminal, essencialmente constituído pelas secreções da próstata e das vesículas seminais, serve como meio nutritivo para os espermatozoides; as modificações de sua composição química influe sobre o grau de motilidade apresentada pelas células sexuais masculinas, uma vez que estão sujeitas todo o tempo ao contacto dessas secreções. A glicóse é de uma importância capital na manutenção da motilidade dos espermatozoides humanos (21). O ácido láctico é o produto final predominante no metabolismo "in vitro" destas células.

As secreções do epidídimo, da próstata e das glandulas de Cowper, adicionadas separadamente a ejaculados recentes, não demonstraram efeitos sobre a motilidade dos espermatozoides (4).

Não será demais insistir aqui sobre a importância da colheita do material sobre a motilidade.

As alterações observadas na motilidade indicam quasi sempre a presença de anormalidades na contagem dos espermatozoides ou na sua morfologia, sendo excepcional a sua observação isolada.

**Vitalidade dos espermatozoides:** é a duração da motilidade usualmente tomada como o critério de vitalidade dos espermatozoides.

Para que os espermatozoides se conservem vivos por longo tempo é indispensável que seja conservado em temperatura baixa, entre 8° e 20° C., como aconselha BELDING (1). Temperaturas mais altas dão lugar a uma elevada motilidade com reduzida vitalidade. Eis porque a vitalidade dos espermatozoides "in vitro" é maior do que a que tem lugar nas vias genitais femininas, onde por exaltação da motilidade há um esgotamento precoce dos gametos masculinos. Contudo para os trabalhos clínicos a temperatura do laboratório é muito prática e permite a persistência da motilidade por 24 horas ou mais, tempo suficiente para se ajuizar do valor do semen sob este prisma.

A vitalidade dos espermatozoides depende ainda do meio em que estas células se encontram suspensas. Artificialmente colocadas no líquido de BAKER apresentam um período de motilidade mais longo do que quando se encontram no líquido seminal (1); o período mais longo da persistência da motilidade na solução "buffer" sintética foi de 26 dias, enquanto que no



líquido seminal atingiu apenas a 10 dias, com as amostras mantidas a 8° C.

A duração da motilidade é dependente da composição química do meio e da concentração do ion hidrogenio do meio em que se encontram os espermatozoides.

A mistura de urina com o esperma diminue a vitalidade dos espermatozoides, de acôrdo com as observações de BROWN (4). A urina diabetica tem menos efeito do que uma urina icterica, que apresenta uma ação mais evidente.

A presença de sangue ou de pús não apresenta influências sobre a duração da motilidade (29).

A determinação da vitalidade pôde ser realizada em tubos capilares fechados por estiramento na chama ou por tamponamento com algodão. MURRAY (32) recomenda a observação microscópica neste dispositivo, onde as formas imóveis ocupam a semicircunferência inferior do tubo e as móveis a superior, sendo o exame feito à temperatura ambiente e em condições de anaerobióse parcial.

Para os exames de rotina torna-se mais prático realizar a verificação da vitalidade do seguinte modo: colocamos uma gôta do esperma entre lamina e lamínula, dentro de uma moldura de parafina líquida, previamente desenhada sobre a lamina, examinando a preparação ao microscópio com um aumento de cêrca de 400 diametros. A lamina será mantida à temperatura ambiente e guardada em uma camara úmida que se pôde improvisar facilmente empregando placas de Petri dotadas interiormente de um pedaço de papel de filtro úmedecido.

A observação será feita num período de 24 horas em quatro etapas, como recomenda HOTCHKISS (13):

- 1a. — 1 a 6 horas
- 2a. — 6 a 12 horas
- 3a. — 12 a 18 horas
- 4a. — 18 a 24 horas

Normalmente, nestas condições, no fim de 24 horas devemos encontrar ainda 25% de espermatozoides moderadamente ativos.

A interpretação da duração da motilidade dos espermatozoides é difícil de ser estandardizada, pois os seus resultados são acentuadamente influenciados por fatores pessoais dos examinadores.

**Número dos espermatozoides:** a determinação do número de espermatozoides, constiue uma pesquisa de valor clínica incontestavel.

A contagem deve ser realizada dentro das primeiras três horas após a colheita do material, processando-se após este período uma certa aglutinação dos espermatozoides que irá influir no resultado final.

O número admitido como normal apresenta uma ampla variação entre os diferentes AA. o que é facilmente compreensível, pois o estabelecimento de cifras normais apresenta varias dificuldades, tais como a obtenção de um material suficientemente abundante, o problema do que constitue um indivíduo normal, pois embóra apresentando comprovada fertilidade no passado é impossível saber se no momento do exame ainda persiste este poder, e ainda as variações individuais observadas, sem falar nos numerosos fatores que influem na produção dos espermatozoides, como a nutrição, o exercício, a frequência dos atos sexuais, as condições nervosas e mentais e o estado de suficiência endócrina.

Os números apresentados como normais pelos diferentes AA, são:

<b>Autores</b>	<b>Número por cc.</b>	<b>Número por ejaculado</b>
BROWN	120 milhões	400 a 500 milhões
BELDING	70 a 119 milhões	400 a 600 milhões
KOLMER e BOERNER	100 a 150 milhões	—
KRACKE e PARKER	70 milhões ou mais	—
POLLAK e JOEL	60 a 120 milhões	—
HUFFMANN	100 milhões	—
MACOMBER e SAUNDERS	100 milhões	—
MEAKER	60 a 100 milhões	—
HOTCHKISS, BRUN- NER e GRENLEY	2.250.000 a 544 milhões Media : 120.630.000	2.820.000 até 2.330.000.000 Media : 346.020.000

Com o propósito de obterem uma idéia do normal, HOTCHKISS, BRUNNER e GRENLEY (11) procederam exames do líquido seminal em 200 homens ferteis, cujas mulheres após uma gestação normal deram à luz uma criança com saúde perfeita. Chegaram à conclusão que o conceito do homem ser estéril quando o número encontra-se abaixo de 60 milhões é incorreto, pois em 25% dos seus casos a contagem era inferior a esta cifra, obtendo-se números muito baixos como seja 2.250.000 por cc.

MOENCH (30) é de opinião de que quando se afirma a não existência de fertilidade nos casos em que os espermatozoides se encontram numa concentração de menos de 60 milhões por cc.,

está-se menosprezando outros fatores capazes de determinarem infertilidade.

O número de espermatozoides produzidos normalmente é superior ao necessário, para que tenha lugar a fertilização do ovo, numa previsão da natureza para assegurar a perpetuação da espécie, porém a média geralmente considerada de 100 milhões por cc. certamente é muito elevada.

Fazendo um estudo sobre a esterilidade no homem, KREUTZMANN (20) também assinala que nem sempre está presente uma esterilidade clínica, quando a contagem dos espermatozoides é inferior a 60 milhões por cc.

Deste modo não assiste razão a MEAKER (24) quando afirma em seu livro que não ocorre prenhez quando o número de espermatozoides é inferior a 60 milhões por cc., apresentando os homens férteis contagens sempre superiores a 100 milhões por cc.

Para a contagem dos espermatozoides utilizamos o método de MACOMBER e SAUNDERS (22), colhendo por meio de uma pipeta conta-glóbulos brancos até a marca 0,5 de uma amostra de semen bem agitada, para perfeita homogenização. Efetuar uma diluição de 1 para 20 aspirando o líquido diluidor, cuja fórmula damos abaixo, até a marca 11, que se encontra logo acima da dilatação. Agitar a pipeta, desprezar as primeiras gotas e encher câmara de Neubauer, esperando alguns minutos para que os espermatozoides se depositem, para depois realizar a contagem.

A fórmula do líquido diluidor é:

Bicarbonato de sódio		5 gr.
Formol	..	1 cc.
Água destilada	...	100 cc.

O bicarbonato de sódio presente nesta fórmula de MACOMBER e SAUNDERS vai dissolver pequenas quantidades de múco, proporcionando uma melhor distribuição dos gametos masculinos; o formol, pela morte, torna os espermatozoides imóveis.

Procedamos a contagem estudando a área ocupada por 1 mm<sup>2</sup>. A câmara de Neubauer é composta por 9 grandes quadrados de 1 mm<sup>2</sup> cada um; o milímetro quadrado central encontra-se dividido em 25 grupos de 16 pequenos quadrados, isto é, em 400 pequenos quadrados com a área de 1/20 mm<sup>2</sup>., onde devemos realizar a contagem. Se as células são pouco numerosas, contaremos todas as células encontradas no milímetro quadrado central da câmara; se, pelo contrário, são muito numerosas, os resultados serão satisfatórios com a contagem de 5 blocos de 16 pequenos quadrados, ou seja, de 1/5 da área considerada.

O número obtido na contagem de  $1 \text{ mm}^2$  multiplicado por 10 nos dará o conteúdo de espermatozoides em  $1 \text{ mm}^2$ ; multiplicando por 1.000 teremos o resultado em 1 cc. de semen diluído; para chegar ao número encontrado em 1 cc da amostra de líquido seminal puro é necessário multiplicar ainda por 20 (diluição usada). Os cálculos serão simplificados, tomando o número encontrado em  $1 \text{ mm}^2$ , adicionando 5 zeros e multiplicando por 2.

Realizando a contagem apenas em 80 quadrados pequenos ( $1/5$  da área) é suficiente adicionar ao número encontrado 6 zeros para termos o resultado em 1 cc. do líquido seminal examinado.

A contagem poderá igualmente ser feita em outras câmaras, desde que os cálculos sejam realizados com o número encontrado em 80 ou 400 pequenos quadrados (área de  $1 \text{ mm}^2$ ), conforme os espermatozoides sejam muito numerosos ou não.

As diluições do esperma para a contagem poderão ser feitas com quantidades maiores, em vez de usar pipetas conta-glóbulos, como recomenda WEISMAN (40).

Multiplicando o número de espermatozoides por cc., pelo volume encontrado na amostra em estudo, vamos obter o resultado no total do ejaculado, modo mais exato de apresentar as cifras obtidas na contagem, demonstrando BELDING (2) que o resultado por cc. é variável de acordo com a atividade da próstata e das vesículas seminais.

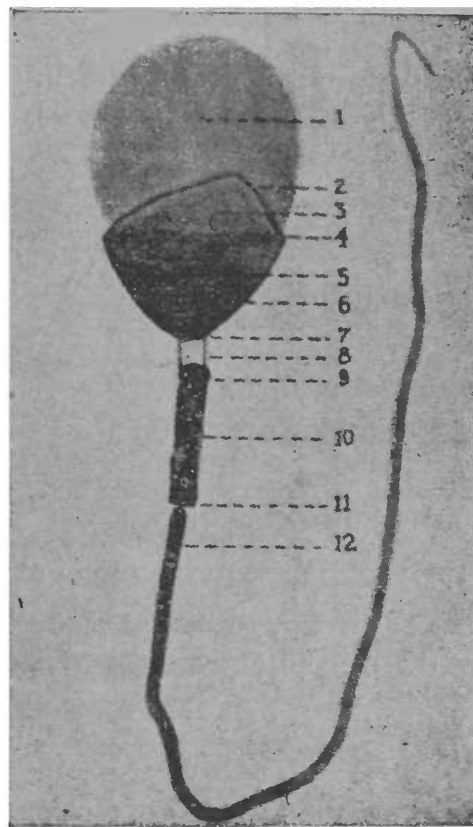
Não há relação entre a quantidade do ejaculado e a contagem dos espermatozoides por cc.; grandes volumes não indicam uma maior diluição dos espermatozoides, bem como volumes reduzidos não mostram uma maior concentração.

A observação de numerosos espermatozoides (hiperespermia) não é patológica e são os casos onde se observam graus elevados de motilidade; um resultado numérico baixo (hipoespermia ou oligoespermia) em um único exame não constitui necessariamente um índice de baixa fertilidade, devendo-se ter presente que podem se apresentar variações numéricas acentuadas, num mesmo indivíduo, em várias ocasiões. As observações clínicas, porém, parecem demonstrar que quanto maior o número de espermatozoides no líquido seminal de um indivíduo tanto maior será a sua capacidade fecundante, como que compensando qualquer diminuição da fertilidade por parte da mulher, tendo-se em linha de conta ainda, que uma determinada concentração de espermatozoides pode ser adequado para uma mulher e inteiramente inadequado para outra.

**Morfologia dos espermatozoides:** o estudo dos espermatozoides anormais oferece um dos melhores critérios para a apreciação da fertilidade do homem; em muitos casos considerados normais por apresentarem contagens normais, um estudo morfológico cuidadoso revela alta percentagem de formas anormais (15), constituindo às vezes a única evidência de um efeito de espermatogênese no homem.

Classificamos as formas normais e anormais pelo exame de esfregaços delgados e corados com uma objetiva de imersão.

A célula fecundante masculina tem origem em um processo evolutivo intra-glandular, que a leva desde a célula parietal ou **espermatogônia** até sua fase terminal de **espermatozoide**, passando pelas fases intermediárias de **espermatoócito**, de **espermátide** e de **espermatoblastos**; estas últimas são as chamadas células de Sertoli.



**Fig. 1**

**ESPERMATOZOIDE TÍPICO**

(Williams, McGugan e Carpenter, 1934)

1. — parte anterior da cabeça; 2. — membrana nuclear ou galea capitis; 3. — parte posterior da cabeça; 4. — margem anterior do núcleo; 5. — núcleo; 6. — margem lateral do núcleo; 7. centríolo proximal; 8. — cólo (porção mais descorada); 9. — parte anterior do centríolo distal (visível apenas em condições patológicas); 10. — corpo ou porção intermediária; 11. — parte posterior do centríolo distal (muito raramente visível); 12. — cauda e filamento terminal.

Na espermatozoide normal (fig. 1) com sua forma característica é fácil de reconhecer a sua cabeça, o cólo, a porção intermédia e a cauda, medindo de 52 a 62 micra.

Naturalmente em um exame de rotina não vamos pesquisar detalhes, mas apenas as formas degenerativas mais importantes, dirigindo nossa principal atenção sobre a cabeça, onde têm lugar as principais modificações.

Fazemos um esfregaço do líquido seminal de modo idêntico ao do sangue; a preparação é então sêca ao ar e fixada com moderado calor.

Vários métodos de coloração são aconselhados pelos diferentes autores, dando muito bons resultados o seguinte indicado por MOENCH (27):

A) as laminas fixadas são tratadas com uma solução de **clorozene** a 1%, imergindo-as por meio a dois minutos, a fim de remover o múco; tempo esse ótimo apenas para esfregaços delgados.

B) lavagem cuidadosa com água distilada.

C) lavagem com alcóol a 95% e deixar secar.

D) coramos com uma solução recente e filtrada, por 2 a 3 minutos, cuja composição é a seguinte:

Fucsina fenidada de Ziehl-Neelsen	2 cc.
Solução alcoólica saturada de eosina	1 cc.
Alcóol a 95%	1 cc.

E) lavagem rápida com água.

F) contrastar aplicando-se por 1 a 5 segundos a seguinte solução:

Azul de metileno de Ioeffler	1 parte
Água distilada	6 partes

G) lavagem com água distilada e deixar secar.

H) examinar com imersão.

Trata-se contudo de um método de coloração de execução delicada. Para a prática diária usamos com resultados satisfatórios o método de coloração de Gram, que permite uma boa visualização da estrutura celular, classificando-se as formas anormais facilmente. A visualização de todos os pequenos detalhes é desnecessária e nem a prática médica diária exige tal perfeição.

As anormalidades das células espermáticas devem ser classificadas em um pequeno número de tipos, pois as grandes divisões prestam-se apenas para confusões e não para trazer esclarecimentos ao médico.

Uma descrição prática das anomalias dos espermatozoides foi feita por HOTCHKISS e colaboradores (11); reconheceram apenas seis tipos principais que passamos a descrever:

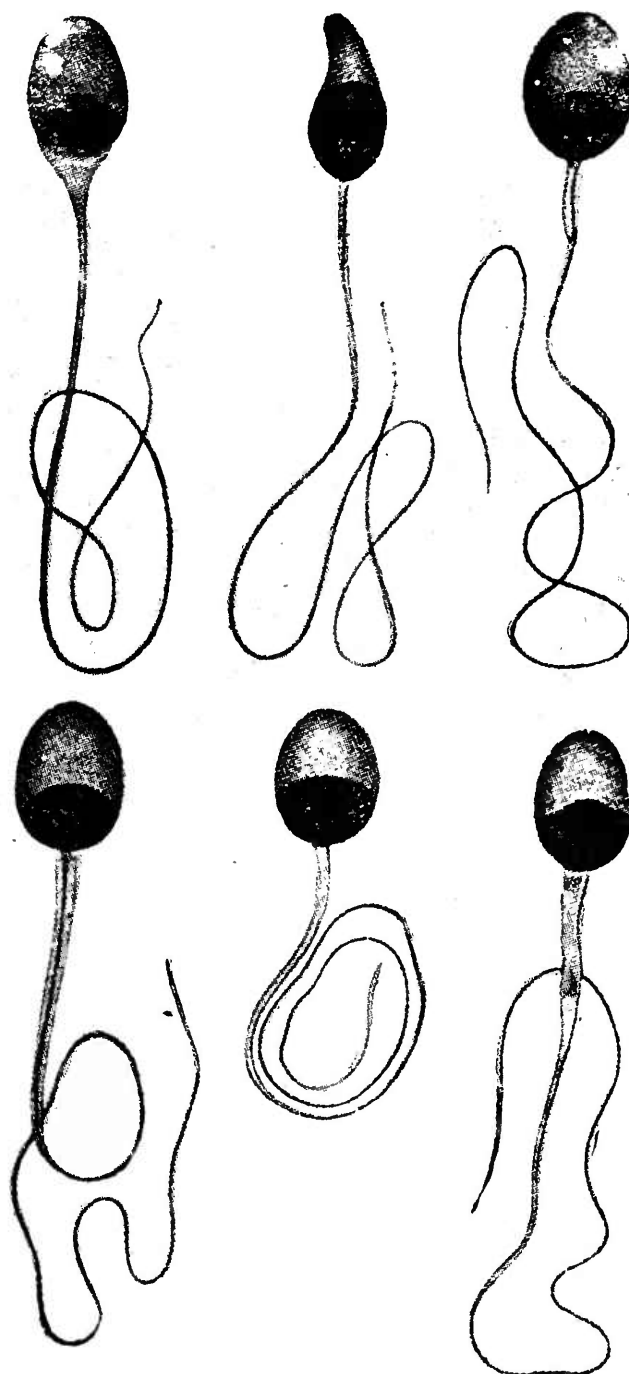


Fig. 2  
ESPERMATOZOIDE NORMAL ou OVAL, VISTO DE FRENTE E DE PERFIL  
(Hotchkiss, 1944)

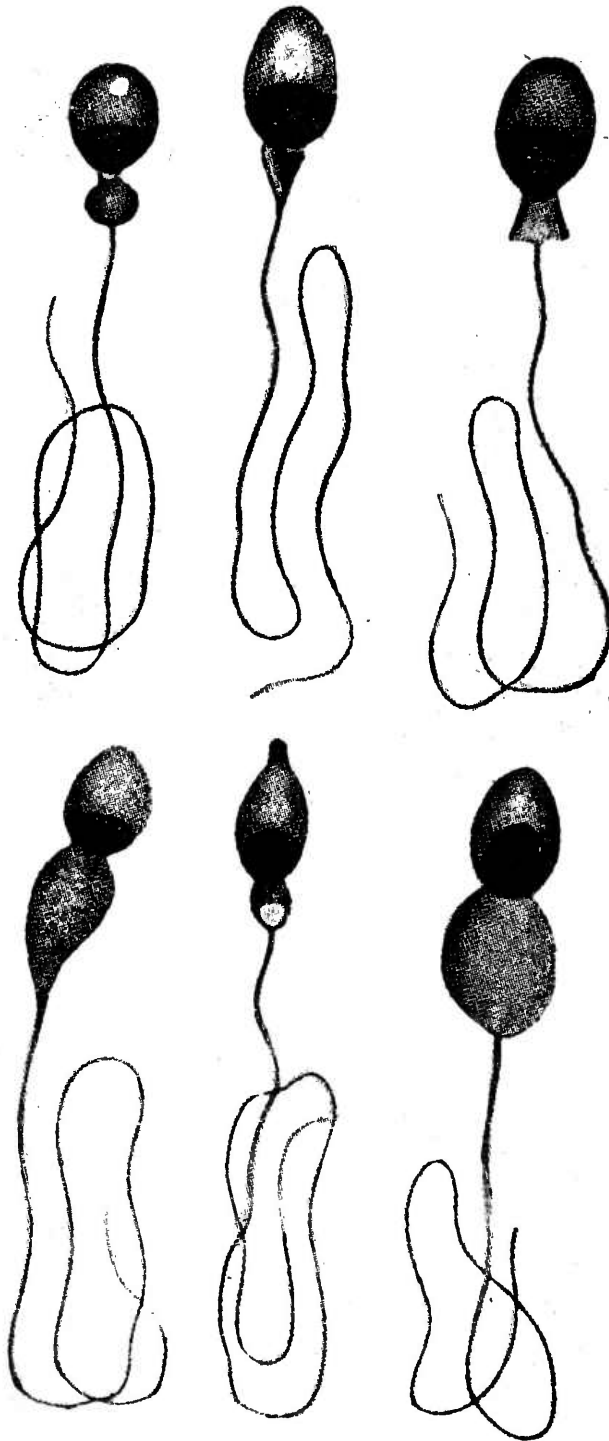
A) — **Forma normal:**

1) — **Oval** (fig.2) que é o tipo mais encontrado nas preparações coradas, observando Hotchkiss e seus colaboradores



em 200 homens, férteis a sua presença na frequência média de 89,81%.

Podemos às vezes observar variações da densidade do material nuclear, bem como a presença de vacúolos, cujo signifi-



**Fig. 3**  
**ESPERMATOZOIDE OVAL COM APÊNDICES CITOPLASMÁTICOS**  
(Hotchkiss, 1944)

cado é desconhecido. Outras vezes observamos a presença de espermatozoides com apêndices citoplasmáticos (fig. 3) devendo os mesmos serem classificados como normais.

B) — **Formas anormais:**

2) — **Formas achatadas** que são as mais importantes entre as formas anormais, ocorrendo no grupo dos 200 homens férteis na média de 3,68% (Fig. 4).

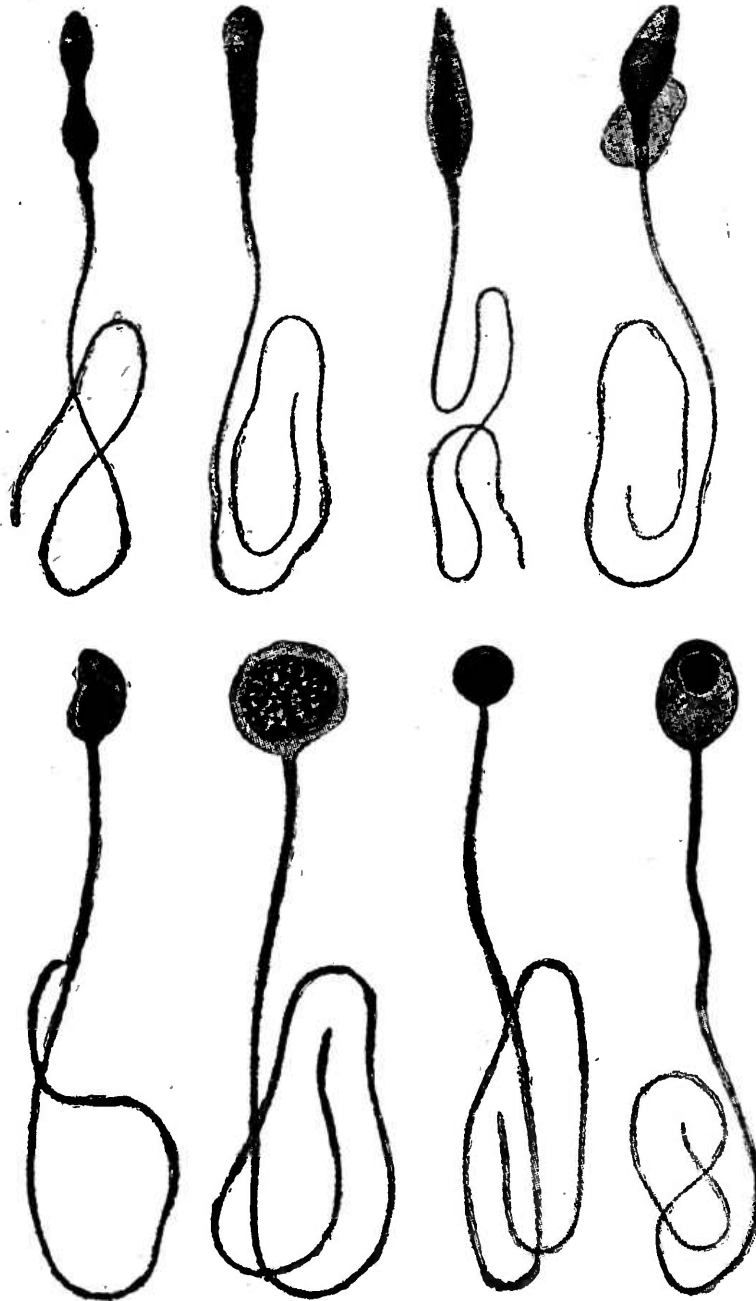


Fig. 4

ESPERMATOZOIDES ANORMAIS, FORMAS ACHATADAS (em cima)  
E FORMAS REDONDAS (em baixo)  
(Hotchkiss, 1944)

3) — **Formas redondas** (fig. 4) presentes numa média de 1,65%.

4) — **Formas duplas** (fig. 5) compreendendo duplos núcleos, duplas cabeças e duplas caudas; sua média no grupo fértil foi de 1,84%.

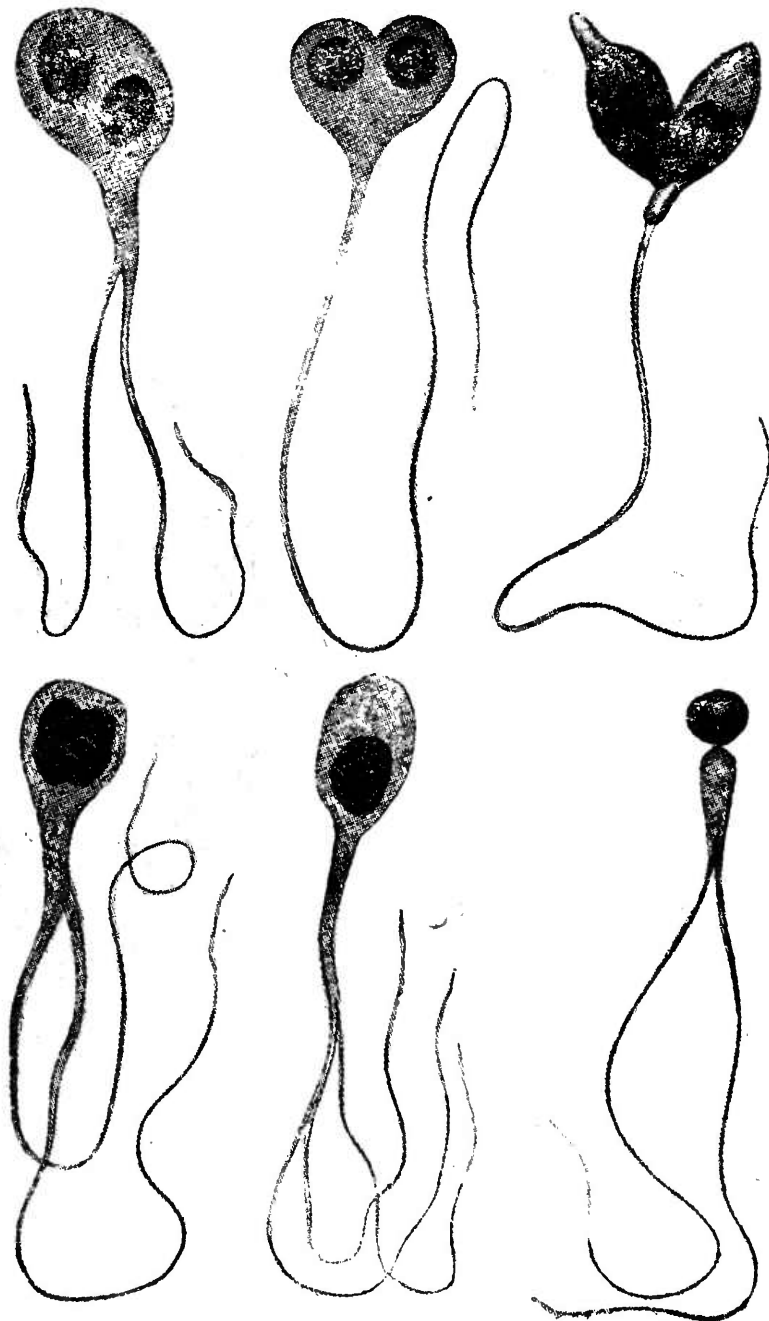


Fig. 5

FORMAS DUPLAS  
(Hotchkiss, 1944)

5) — **Formas gigantes** ou **macrocéfalas** e **formas microcéfalas** (fig. 6) de observação muito rara (média de 0,6%).

6) — **Disformes** assim denominadas pela impossibilidade de um nome adequado para descrever as variadas formas (fig. 7);

neste grupo se incluem todas as demais formas que não encontram lugar nos cinco primeiros.

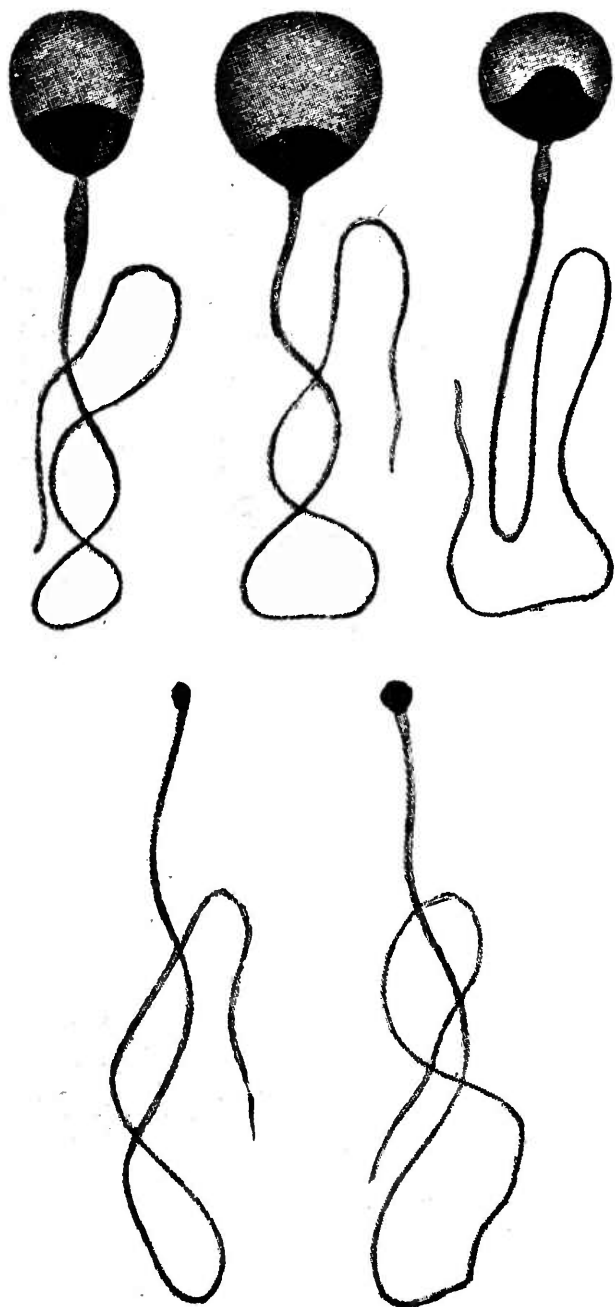
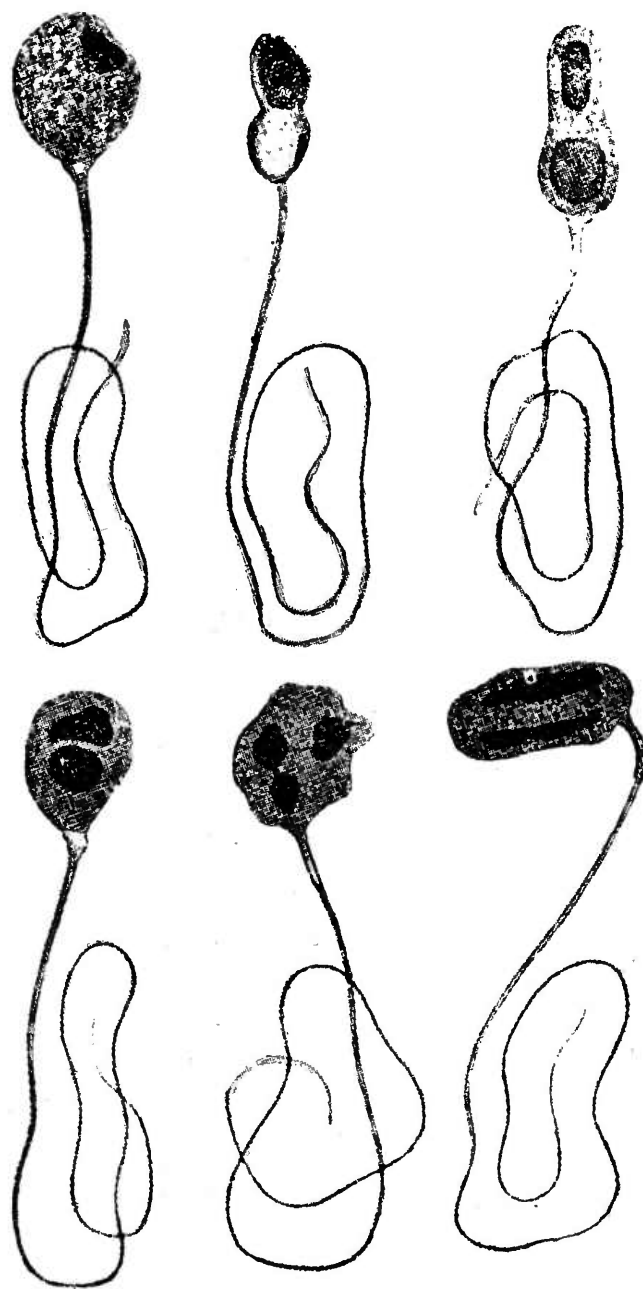


Fig. 6  
FORMAS MACROCÉFALAS (em cima)  
E MICROCÉFALAS (em baixo)  
(Hotchkiss, 1944)

Fig. 7  
DISFORMES  
(Hotchkiss, 1944)



Outras anormalidades podem ser observadas no corpo e na cauda, como espessamentos, angulações, porém não são capazes de interferirem na fertilização do ovo. São os “pequenos” defeitos” assim chamados por HUFFMANN (14) em oposição às alterações observadas na cabeça, por ele denominado de “grandes defeitos”.

Os limites dessas formas num esperma normal são muito oscilantes, porém, a fertilidade do homem diminui com o aumento da porcentagem de formas anormais.

MOENCH (28) estudando 141 casais, onde se encontravam inclusos 37 casos de fertilidade comprovada, concluiu que as formas anormais nunca devem exceder de 19 a 20%. Quando as anormalidades atingem de 20 a 30%, a fertilidade está alterada; acima de 25% geralmente existe uma esterilidade clínica. Para este autor a presença de formas achatadas é a mais sinistra alteração morfológica das cabeças dos espermatozoides, havendo esterilidade quando estas formas chegam a 8 ou 10%.

A tolerância máxima de 20% de formas anormais num semen normal é admitida por vários autores.

Até o presente ainda não foi possível demonstrar uma relação entre a morfologia e a responsabilidade pelas malformações fetais.

Nas molestias hereditárias as anormalidades observadas nos espermatozoides são grandes. WIDAKOWICH (41) chama a atenção para o grande número de espermatozoides atípicos observados nos sífilíticos, baseando o seu estudo em mais de 100 casos.

**Outros elementos:** sem interferir com o poder fecundante do esperma podemos ainda encontrar vários elementos, que passamos a mencionar:

a) — **células testiculares** que podem ser observadas ocasionalmente no esperma normal, tornando-se muito aumentadas em número e variedades de tipos em casos anormais, sobretudo nos processos degenerativos testiculares. Para o estudo desses elementos celulares utilizamos esfregaços secos rapidamente no ar e corados, sem fixar, pela fuchsina diluída ou azul de metileno.

b) — **células epiteliais do sistema tubular masculino**, que presentes no esperma em grande número fazem suspeitar de uma irritação de qualquer natureza.

c) — **leucocitos** que podem ser encontrados em grande número e mesmo em agrupamentos indicando uma inflamação; na ausência de um corrimento uretral, geralmente provem da próstata ou das vesículas seminais, sem contudo afetar o poder fecundante dos espermatozoides, com exceção dos casos onde a "piospermia" se associa com um excesso de múco, acarretando um aumento de viscosidade do líquido seminal.

d) — **hematias** cuja presença denota uma congestão intensa do sistema tubular masculino; fazendo-se necessário às vezes, uma uretoscopia.

e) — **corpúsculos amiláceos** da prostata, de aspecto laminado, coráveis pelo iodo, encontrados depois de repetidos coitos, indicando uma exaustão. Com o aumento da idade podem chegar a formar concreções de 1 mm. ou mais de diâmetro (30).

f) — **gôtas de lecitina** procedentes da secreção prostática.

g) — **cristais espermáticos ou de BÖTTCHER**, assemelhando-se por sua morfologia aos cristais de Charcot-Leyden, e que aparecem no esperma normal deixado em repouso, não se sabendo bem do seu significado.

h) — **cilindros testiculares**.

Com os dados obtidos no exame do líquido seminal, de acordo com a técnica acima descrita, podemos então avaliar a capacidade espermatogênica do homem; sem contudo podermos traçar uma linha limite entre amostras inférteis ou não, estudando no seu conjunto todos os valores apresentados, e não apenas um fator isoladamente.

Quando observamos valores baixos num exame apenas, é útil a repetição, levando em conta as variações que podem existir nos indivíduos, dependentes de sua idade, hábitos de vida e condições físicas. A importância destas variações é particularmente mais acentuada nas amostras com resultados limites.

E é possível que a época do ano e a temperatura possam ter algum efeito sobre o esperma. MILLS e SENIOR (26) procurando verificar o efeito do clima sobre a fertilidade humana, chegaram à conclusão de que se encontra diminuída nos meses de verão.

Todas as deficiências observadas no esperma examinado, devem ser tratadas oportunamente, por menos importante que nos pareça, sendo muitas vezes um modo de compensar a fertilidade da mulher, pelo aumento do poder fecundante do marido.

**SUMARIO:** 1) Colheita do material: deve ser realizada por masturbação, executada fóra do laboratório, num ambiente agradável ao indivíduo, eventualmente com o auxílio de uma companheira.

2) A amostra deve ser colhida em um tubo de vidro de boca larga, limpo e esterilizado, tamponado com rolha de cortiça e mantida em temperatura ambiente e deste modo conduzida ao laboratório dentro de 2 horas, no máximo.

3) O paciente deve ter observado o repouso sexual no mínimo de 3 dias, não devendo apresentar enfermidades recentes.

4) No exame macroscópico tem capital importância medir o volume, que normalmente varia de 3 a 4 cc.

5) O exame microscópico constitui a parte principal do exame do líquido seminal. A verificação da motilidade dos espermatozoides é feita pelo exame de uma preparação úmida, estabelecendo-se a porcentagem dos elementos vivos, contando os espermatozoides móveis e depois os imóveis, que pode ser expressa em "graus"

6) A duração da motilidade é usualmente tomada como um critério de julgar a vitalidade dos espermatozoides.

7) A determinação do número dos espermatozoides é feita por meio de uma pipeta conta-globulos brancos, com uma diluição a 1/20 no líquido de Macomber e Saunders, usando para a contagem a câmara de Neubauer; ao número encontrado em 80 pequenos quadrados é suficiente adicionar 6 zeros para termos o resultado em 1 cc. de esperma puro. Este número multiplicado pelo volume dará o resultado no total do ejaculado.

8) O estudo da morfologia dos espermatozoides constitui um dos melhores critérios para a apreciação da fertilidade no homem. As formas anormais são classificadas, de acordo com Hotchkiss, em: 1) formas achatadas; 2) formas redondas; 3) formas duplas; 4) formas gigantes ou macrocéfalas e formas microcéfalas; 5) disformes. O exame é realizado em esfregaços corados.

9) Os valores normais obtidos no exame microscópico do esperma são: a) 75 a 85% de espermatozoides vivos, correspondendo a um grau 3; b) no fim de 24 horas devemos encontrar ainda 25% de espermatozoides moderadamente ativos, quando mantidos em temperatura ambiente; c) concentração de 60 a 120 milhões de espermatozoides por cc. ou de 300 a 500 milhões por ejaculado; d) um máximo de 20% de formas anormais.

10) Ao lado dos espermatozoides podemos observar ainda a presença de outros elementos, celulares ou não, sem interferir com o poder fecundante do semen, que apenas devem merecer especial atenção quando presentes em grande número.

11) Para avaliar a capacidade espermatogênica do homem devemos estudar todos os valores apresentados, no seu conjunto, e nunca concluir pela observação de um dado isolado.



## B I B L I O G R A F I A :

1. — BELDING, David L. — Fertility in the male; technical problems in establishing standards of fertility — *Am. J. Obst & Gynec.* — 26:868-873, Dez., 1933.
2. — BELDING, David L. — Fertility in the male; technic of the spermatozoa count — *Am. J. Obst. & Gynec.* — 27:25-31, Jan., 1934.
3. — BROWN, Royal L. — On the care of human sperm — *J. Lab. & Clin. Med.* — 29:211-213, Fev., 1944.
4. — BROWN, Royal L. — Effect of seminal constituents on spermatozoa — *J. Urol.* — 51:443-445, Abril, 1944.
5. — CARY, William H. e HOTCHKISS, Robert S. — Semen appraisal; a differential stain that advances the study of cell morphology — *J. A. M. A.* — 102:587-590, Fev. 24, 1934.
6. — CORDEIRO, J. P. Leite — Esterilidade masculina — *Med. Cir. Pharm.* — pp. 439-454, Jun., 1942.
7. — GARDNER, George H. — Female infertility; our diagnostic responsibilities — *J. A. M. A.* — 128:245-248, Maio 26, 1945.
8. — GRADWOHL, R. B. H. — Clinical laboratory methods and diagnosis — Mosby Co. — 1938.
9. — GREENHILL, J. P. — Ginecologia prática — Casa do livro Ltda. — 1942.
10. — HOTCHKISS, Robert S. — Methods in sperm analyses and evaluation of therapeutic procedures — *J. A. M. A.* — 107:1849-1851, Dez. 5, 1936.
11. — HOTCHKISS, Robert S., BRUNNER, Endre K. e GRENLEY, Philip — Semen analyses of two hundred fertile men — *Am. J. M. Sc.* — 196:362-382, Set., 1938.
12. — HOTCHKISS, Robert S. — Factors in stability and variability of semen specimens; observations on 640 successive samples from 23 men — *J. Urol.* — 45:875-888, Jun., 1941.
13. — HOTCHKISS, Robert S. — Fertility in men — J. B. Lippincott Co. — 1944.
14. — HUFFMAN, J. W. — New factors of clinical significance in study of human spermatozoa — *Surg. Gynec. & Obst.* — 73:228-233, Agosto, 1941.
15. — KESHIN, Jesse G. e PINCK Bernard D. — Factors in male sterility; a critical review of 135 cases — *Am. J. Surg.* — 66:346-356, Dez., 1944.
16. — KLEEGMAN, Sophia J. — Sterility — *Am. J. Surg.* — 33:392-405, Set., 1936.
17. — KLOPSTOCK, M. e KOWARSKI A. — Técnica de los métodos de exploración clínicos — Ed. Labor — 1941.
18. — KOLMER John A. e BOERNER Fred — Metodos de laboratorio clinico — The University Society — 1943.
19. — KRACKE R. e PARKER Francis P. — A textbook of clinical pathology — Williams and Wilkins Co. — 1940.
20. — KREUTZMANN Henry A. R. — Sterility in the male; diagnosis and treatment — *J. A. M. A.* — 115:1424-1426, Out., 26, 1940.
21. — MacLEOD, John e HOTCHKISS Robert S. — The distribution of spermatozoa and of certain chemical constituents in the human ejaculate — *J. Urol.* — 48:225-229, Agosto, 1942.

22. — MACOMBER, D. e SAUNDERS, M. B. — The spermatozoa count; its value in diagnosis, prognosis and treatment of sterility — *New England J. Med.* — 200:981-984, Maio 9, 1929.
23. — MAZER, Charles e ISRAEL S. Leon — Distúrbios menstruais e esterilidade; diagnóstico e tratamento — Ed. Guanabara — 1942.
24. — MEAKER, Samuel R. — *Human Sterility* — Williams and Wilkins Co. 1934.
25. — MEAKER, Samuel R. e VOSE Samuel N. — The nature of human infertility — *J. A. M. A.* — 115:1426-1428, Out. 26, 1940.
26. — MILLS C. A. e SENIOR F. A. — Does climate affect the human conception rate? — *Ach. Int. Med.* — 46:921-929, Dez., 1930.
27. — MOENCH, Gerad L. — The tecnic of the detailed study of seminal cytology — *Am. J. Obst & Gynec.* — 19:530-538, Abril, 1930.
28. — MOENCH, Gerad L. e HOLF Helen — Sperm morphology in relation to fertility — *Am. J. Obst & Gynec.* — 22:199-210, Agosto, 1931.
29. — MOENCH, Gerad L. — A consideration of some of the aspects of sterility; evaluation after 10 years — *Am. J. Obst & Gynec.* — 32:406-415, Set., 1936.
30. — MOENCH, Gerad L. — The relation of certain seminal findings to fertility, with special reference to sperm concentration and the significance of testicular epithelial cells in semen — *Am. J. Surg.* 47:586-596, Março, 1940.
31. — MORAIS P. Alvés, VIÉGAS Aulo Pinto e RUBIÃO Paulo — A normoespermia em Belo Horizonte — *Brasil Méd.* — 57:328-331, Agosto 7 14, 1943.
32. — MURRAY, Edmundo G. — Determinación de la viabilidad espermática; procedimiento original — *Bol. Soc. de obst. ginec. de Buenos Aires* — 23:605-612, Out. 26, 1944.
33. — OLIVEIRA LIMA, A. e colaboradores — Métodos de laboratório aplicados à clínica — 1943.
34. — POLLAK, Otakar Jaroslav e JOËL Charles Akiba — Sperm examination according to the present state of research — *J. A. M. A.* — 113:395-398, Jul. 29, 1939.
35. — PORTNOY Louis — The diagnosis and prognosis of male infertility; study of 44 cases, with special reference to sperm morphology — *J. Urol.* — 48:735-746, Dez., 1942.
36. — SEGRE, Giulio — Causas e tratamento da esterilidade — *Rev. Biol. Med.* — 1:214-235, Jul.-Agosto, 1940.
37. — SEGUY, J. — Déficiência spermatique; hormonothérapie et chimiothérapie — *Rev. Med. Franç.* — 19:703-705, Dez., 1938.
38. — TALIBERTI, José — O reservatório de espermatozoides no homem — *Rev. Paul. Med.* — 26:325-333, Jun., 1945.
39. — WALKER, Kenneth M. — The dianosis and tratment of male infertility — *Proc. Roy. Soc. Med.* — 38:243-246, Abril, 1945.
40. — WEISMAN Abner I. — A simple and accurate method of counting spermatozoa — *J. Lab. & Clin. Med.* — 27:669-670, Fev., 1942.
41. — WIDAKOWICH, V. — Sobre los espermatezoides de los sifiliticos — *Semana Med.* — 27:633-669, Nov. 11, 1920.
42. — WILLIAMS, Walter W., McGUGAN Arthur e CARPENTER H. D. — The staining and morphology of the human spermatozoon — *J. Urol.* — 32:201-212, Agosto, 1934.
43. — WILLIAMS, Walter W. — The relation of sperm motility to fertilizing ability — *Urol. & Cutan. Rev.* — 43:587-592, Set., 1939.