

Sperma antitestek kimutatása latex-agglutinációs gyorstesztel

NAGY BÁLINT DR.¹, CORRADI GYULA DR.², GIMES REZSŐ DR.¹,
VERES IMRE DR.³, FORGÁCS VINCE DR.⁴, CZUPPON ÁDÁM DR.⁵,
CSÖMÖR SÁNDOR DR.¹

A Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Női Klinikája (igazgató: Csömör Sándor dr., egyetemi tanár)¹ és Urológiai Klinikája (igazgató: Frang Dezső dr., egyetemi tanár)², a Mezőgazdasági Biotechnológiai Központ, Gödöllő³, a Fővárosi Tanács Jahn Ferenc Kórház Szülészeti és Nőgyógyászati Osztálya (osztályvezető: Cséplı József dr.)⁴ és a Biotec Diagnostica, Hannover, NSZK⁵ közleménye

Összefoglalás: A szerzők 57 férfi sperma plazmájából és 57 nő vérplazmájából és cervikális nyákjából latex-agglutinációs gyorstesztel sperma antitesteket mutattak ki, a férfiaknál 13 (22,8%), a nőknél 17 esetben (29,8%). A férfiaknál összehasonlították a sejtszámot, motilitást, morfológiát, bovin-nyák penetrációt, hipoozmotikus duzzadási teszt és a „felülúsztatásos” technika eredményeit, valamint a vérplazma tesztoszteron szintjeit, a sperma antitest pozitív és negatív eseteknél. 10 esetben a házaspár mindkét tagjánál sperma antitesteket találtak.

Kulcsszavak: *sperma antitestek, autoimmunitás, spermamparaméterek, „felülúsztatásos technika”, cervikális nyák*

A meddőséget okozó sperma antitestek jelen lehetnek a szérumban, sperma plazmában és a cervikális nyákban [14]. A férfiak autoimmun eredetű meddőségével viszonylag keveset foglalkoznak. A hercesatornácskákat borító Sertoli sejtek szorosan illeszkednek egymáshoz és elzárják ezt a területet a test más részétől, ezzel megakadályozzák a limfociták és a nagymolekulasúlyú proteinek (immunoglobulinok, komplement) átjutását. A vér-here gát embernél megtörhet kémiai vagy fizikai trauma hatására, de a fertőzések révén kijutó spermiumok és spermium részek is az antigén inger forrásai lehetnek [1]. A spermiumok ellen termelt ellenanyagok IgG, IgA vagy IgM típusúak, hozzákapcsolódnak a spermiumokhoz és befolyásolják a megtermékenyítést. Ahol a férj ilyen ellenanyagot termel, ott a fertilitás és a terhességi esélyek az ellenanyag titerrel fordított arányban csökkennek [10, 12].

A nőknél spermainger hatására szintén ellenanyag termelődés indulhat be. Ezek az ellenanyagok megjelenhetnek a vérplazmában és a cervikális nyákban, itt is a titer arányában csökken az esély a terhesség létrejöttéhez [4, 11, 12].

A sperma antitestek kimutatására számos módszert dolgoztak ki: sperma agglutináció és kevert agglutináció, sperma immobilizációs teszt, immunofluorescens teszt, RIA és ELISA tesztek, immunobead teszt, valamint az antigén konzumpciós technika [2, 4, 5, 6, 9, 11, 12, 14, 15].

Vizsgálataink során egy új módszert a latex-agglutinációs gyorstesztet alkalmaztuk az autoimmun eredetű sperma antitestek kimutatására, és összehasonlítottuk a sperma antitest pozitív és negatív férfiak hagyományos sperma paramétereit, a modern funkcionális próbák eredményeit (bovinnyák penetráció, hipoozmoti-

kus duzzadási teszt, „felülúsztatásos” technika), valamint a feleségek vérplazmáját és cervikális nyákját is megvizsgáltuk a sperma antitestek jelenlétére.

Beteganyag és módszer

57 aszimptomatikus férfi spermáját és 57 nő (feleségek) vérplazmáját és cervikális nyákját vizsgáltuk meg, akik meddőségi problémájuk miatt keresték fel klinikánkat. A férfi betegeket a WHO előírásainak megfelelően osztályoztuk [13]. A spermamintákat 5 nap absztinencia után masturbációval adták le és 30 perc elfolyósodás után a sejtszám, motilitás és morfológiai eltérések meghatározására kerültek, a funkcionális próbákat és a mikrobiológiai analíziseket is elvégeztük [3, 7, 8]. A szérum tesztoszteron szinteket a Serono által gyártott radioimmunoassay tesztel határoztuk meg.

A sperma antitestek meghatározására a Biotec Diagnostica (Hannover, NSZK) által előállított „Sperma antitest gyorstesztet” használtuk [4]. A spermaplazmát 10 perces 1000 g-vel való centrifugálása után nyertük és egyből felhasználtuk a teszthez. A feleségek vérplazmáját és cervikális nyákját a hagyományos módszerrel nyertük. A teszt kivitelezése egyszerű, 10 µl antigén szuszpenziót a mellékelt sötétszínű lemez számozott mezőbe mértünk, majd 20 µl spermaplazmát, plazmát vagy a cervikális nyák 100-szoros hígított, lecentrifugált oldatát adtunk hozzá és pálcikával összekevertük. A lemezt 2 percig körkörösön mozgattuk, majd 2–5 perc múlva agglutinációra vizsgáltuk, és a beállított pozitív és negatív kontrollokkal összevetettük az eredményeket. Pozitív esetben a latex-szemcsék agglutinációja jól látható a sötét üveglapon, negatív esetben a folyadék homogén marad. A pozitív spermaplazmákat és plazmákat a mellékelt pufferrel hígítottuk a pontos titer meghatározására.

Az adatok statisztikai kiértékelése BMDP statisztikai programcsomag segítségével történt.

Eredmények

A vizsgált 57 férfiból 30 normozoospermias, 27 oligozoospermias volt, 13-nál (22,8%) volt kimutatható sperma antitest a spermaplazmában (5 oligozoospermias és 8 normozoospermias). A sejtszám, motilitás, morfológiai eltérések, valamint a funkcionális próbák

I. táblázat

A sperma antitest termelés és a sperma paraméterek közötti összefüggés vizsgálata

A vizsgált paraméter	Sperma antitest		Sznifikan- cia
	pozitív	negatív	
	n=13	n=44	
Sejtszám (millió/ml)	31,3±30,8	36,8±14,5	NS
Motilitás (%)	51,9±21,5	56,5±18,3	NS
Morfológia (%)	57,8±22,1	52,0±16,7	NS
„Felülúztatásos” technika (millió spermium/ml)	0,57±0,8	1,05±1,4	NS
Hipoozmotikus duzzadási teszt (duzzadó sejtek %-a)	36,6±35,2	46,7±24,7	NS
Bovín-nyák penetráció (mm)	26,3±18,8	26,9±19,1	NS
Tesztoszteron (pg/ml)	4,1±2,8	2,2±1,4	NS

(bovín-nyák penetráció, hipoozmotikus duzzadási teszt, „felülúztatásos” technika) eredményei és a tesztoszteron szérumszintek a sperma antitest pozitív és negatív csoportban az I. táblázatban láthatók. Nincs nagy eltérés egyik paraméterben sem, lényeges különbség csak a felülúztatásos technikában figyelhető meg, de a nagy szórás miatt nem szignifikáns a különbség.

A sperma antitest titerek a II. táblázatban figyelhetőek meg, ezek titere 1/1 és 1/8198 között váltakozik.

A bakteriológiai vizsgálatoknál 17 férfinél tenyésztett ki valamilyen kórokozó (Escherichia coli, Streptococcus alfaemolyticus, Proteus mirabilis, Candida sp.).

Az 57 nőből 17 bizonyult sperma antitest pozitívnak (29,8%), vérplazma titerek 1/1 és 1/1024 között váltakoztak (III. táblázat), a cervikális nyák sperma antitest titerek 1/100 és 1/20 000 között váltakoztak. Tíz esetben a házaspár mindkét tagja pozitív volt. A cervikális nyák és vérplazma titerek között összefüggést nem találtunk, de általában nagyon magas nyák titernél

a vérplazmában is magas ellenanyag titer járt együtt. Valamint megfigyeltük, hogy magas spermaplazma ellenanyag titer gyakran magas cervikális nyák titerrel párosult. 10 szisztémás sperma ellenanyaggal szemben 17 esetben a cervikális nyákban is kimutattuk ezen anyagot.

Megbeszélés

Jelenleg nincs megbízható teszt forgalomban Magyarországon a sperma antitestek gyors kimutatására. A spermium agglutinációs és spermium immobilizációs tesztek nem specifikusak és gyakran adnak téves pozitív és negatív eredményeket. A Biotech Diagnostica által kidolgozott teszt előnye az, hogy az akroszóma típusú ellenanyagokat mutatja ki, gyors és megbízható eredményeket ad, bármely rendelőben és magánrendelőben alkalmazható. A spermiumokat nem kell előkezelni; nem igényel friss spermiumokat; a tesztben polisztirol részecskékre kovalensen kötöttek stabilizált spermium antigéneket, amelyek hosszú ideig felhasználhatók.

A teszt alkalmas spermaplazmából, plazmából és cervikális nyákból a sperma antitestek kimutatására [4].

A spermaplazmában vizsgálva az ellenanyagok jelenlétét 57 meddő férfiből 13 esetben azaz 22,8%-ban találtunk pozitívítást. Az ellenanyag titerek 1/1 és 1/8108 között váltakoztak. Nem volt lényeges eltérés egyik spermamaméterben sem a sperma antitest pozitív és negatív csoportok között, ezért mindenképpen szükségesnek látszik egy olyan teszt bevezetése, amely gyorsan és megbízhatóan kimutatja a spermiumok ellen termelt ellenanyagot. Eddig az autoimmun eredetű férfi meddőség kivizsgálás nem tartozott a rutin módszerek közé, az új teszt forgalomba hozatalával lehetőség nyílik a bevezetésére, amelynek fontosságát mutatja az is, hogy minden ötödik meddőségi férfi betegnél található ilyen ellenanyagok. A fenti teszt kiterjeszhető a női meddő betegek immunológiai eredetű meddőségének a kimutatására cervikális nyákból és vérplazmából. A vizsgált 57 nőből 17 (29,8%) sperma antitest pozitív volt, tíz esetben a házaspár mindkét tagja ellenanyagot termelt.

A sperma antitest titerek alakulása 13 férfi sperma plazmájában

II. táblázat

	Sperma antitest titer													
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8198
Pozitív esetek száma (fő)	3	2	2	1	—	—	—	1	—	1	—	1	—	2

10 nő vérsavójának sperma antitest titere

III. táblázat

	Sperma antitest													
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096	1/8198
Pozitív esetek száma (fő)	2	—	—	1	—	—	—	1	—	2	4	—	—	—

A sperma antitest pozitív egyéneknél a kezelés lehet „felülúztatott” spermával való inszeminálás, vagy a gaméták petevezetőbe helyezése, esetleg in vitro megtermékenyítés, amely kezelések kiegészíthetők immunszuppresszív gyógyszerekkel.

IRODALOM

1. Alexander, N. J., Anderson, D. J.: Immunology of semen. *Fertil. Steril.* 47, 192–205 (1987). — 2. Clarke, G. N.: Detection of anti-spermatozoal antibodies of IgG, IgA and IgM immunoglobulin classes. *Am. J. Reprod. Immunol.* 6, 195–197 (1984). — 3. Corradi Gy., Gimes G.: Új bovin penetrációs teszt. *Urol. Nephrol. Szle.* 11, 215–217 (1984). 4. Czuppon, A. B.: Clinical evaluation of the new sperm antibody slide test for detection of antibodies to spermatozoa in cervical mucus and seminal plasma. *J. Clin. Chem. Biochem.* 26, 35–38 (1988). — 5. Czuppon, A. B., Mettler, I.: Estimation of anti-spermatozoal antibody concentrations by a I^{125} protein-A binding assay in infertile patients. *J. Clin. Chem. Biochem.* 21, 357–362 (1988). — 6. Jager, S., Kremer, J., van Slochteren-Draaisma, T.: Detection of spermatozoal surface IgG with the direct mixed antiglobulin reaction carried out an untreated fresh human semen. *Int. J. Fertil.* 23, 12–23 (1978). — 7. Jeyedran, R. S., Van der Ven, H. H., Perez-Pelaez, M., Crabo, B. G., Zaneveld, L. J. D.: Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fertil.* 70, 219–228 (1984). — 8. Nagy B., Corradi Gy., Vajda Z., Gimes R., Csömör S.: Occurrence of Chlamydia trachomatis in the semen of men participating in IVF programme. *Human Reprod.* 4, 54–57 (1989). — 9. Perkeddi Gy., Juhász Gy., Demeter J., Gáti I.: Sperma antitestek kimutatása módosított antiglobulin konzupciós technikával. *Magy. Nőorv. L.* 51, 108–111 (1988). —

10. Rümke, P., van Arnsted, N., Messer, E. M.: Prognosis of fertility of men with sperm agglutinins in the serum. *Fertil. Steril.* 25, 393–398 (1974). — 11. Schumacher, G. F. B.: Immunology of spermatozoa and cervical mucus. *Human Reprod.* 3, 289–300 (1988). — 12. Shulman, S.: Sperm antigens and antibodies: effect on fertility. *J. Reprod. Immunol. Microbiol.* 10, 82–89 (1986). — 13. *World Health Organisation: Laboratory Manual for the examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction* (Edts.: Belsey, M. A., Eliasson, R., Gallegos, A. J.) Singapore Press Concern, Singapore, 1980. — 14. Wolff, H., Schill, W. B.: Determination of sperm antibodies in human genital secretions by ELISA technique. *Hum. Reprod.* 3, 223–225 (1988). — 15. Zanchetta, R., Busolo, F., Mastrogiamco, J.: The enzymelinked immunosorbent assay for detection of the anti-spermatozoal antibodies. *Fertil. Steril.* 38, 730–734 (1982).

Nagy, B., Corradi, Gy., Gimes, R., Veres, I., Forgács, V., Czuppon, A., Csömör, S.: *Detection of sperm antibodies using latex-agglutination test.*

The authors detected sperm antibodies by latex-agglutination in the sera, seminal plasma and cervical mucus of 57 infertile couples. They found sperm-antibodies in 13 (22.8%) men and in 17 (29.8%) women. In the sperm-antibody positive and negative groups the authors compared the semen parameters, cell count, motility, morphology, bovine mucus penetration, hypoosmotic swelling test, the results of swim-up technique, and the testosterone levels. They found sperm-antibodies in both men and women in ten couples.

Key words: sperm-antibodies autoimmunity, semen parameters, swim-up, cervical mucus

Közlésre elfogadva: 1989. április 12.