

Spermaantitestek kimutatása donor inszeminált nőknél

NAGY BÁLINT DR., GIMES REZSŐ DR., INOVAY JÁNOS DR.,
SZENDEI GYÖRGY DR., PULAY TAMÁS DR.,
CZUPPON ÁDÁM DR.

A Semmelweis Orvostudományi Egyetem 1. sz. Női Klinikája (igazgató: Csömör Sándor dr., egyetemi tanár) és a Biotec Diagnostica, Hannover, NSZK (igazgató: Martin Schiele) közleménye

Összefoglalás: A szerzők 87 donorinszeminált nő cervikális nyákjában latex agglutinációs teszttel 34%-ban mutattak ki spermaantitestet, ELISA módszerrel a vérsavókból 33,3%-ban. A cervikális nyákban a titerek 1/100 és 1/12800, a savóból 0,1–1,1 µg/ml között váltakoztak. A lokális és a szisztémás spermaantitest előfordulással összefüggést nem találtak.

Kulcsszavak: spermaantitestek, donor inszemináció, cervikális nyák, latex agglutináció

Landsteiner mutatta ki először, a múlt század végén, hogy a spermiumok ellen egyes személyeknél ellenanyagok találhatók a szérumban. Később Rosenfeld és Baskin bebizonyították, hogy a spermiumokkal, vagy a spermaplazmával történő immunizálással mesterségesen is meddőséget lehet előidézni [5]. Ezeket a korai megfigyeléseket mikroszkópos spermaantitest-vizsgálati eljárások sora követte, így a spermiumagglutinációs és -immobilizációs tesztek, majd a specifikusabb MAR és „immuno-bead-binding” tesztek, a Kremer-testz és a Sims–Huhner-testz [4, 6, 7, 8, 9, 10, 11]. Hátérny ezeknek az eljárásoknak az, hogy nem elég specifikusak. A monoklonális ellenanyagok felfedezése tette csak lehetővé, hogy a meddőség szempontjából fontos antigéneket a spermiumok és petesejtek felszínén pontosan meghatározzuk. Specifikusan tisztított ellenanyagok előállításával lehetőség nyílik latex-agglutinációs, RIA- és ELISA- tesztek kidolgozására. A Biotec Diagnostica a világon elsőként állított elő egy 40000 dalton molekulású sziologlikoproteint, amely egyes meddő házaspárok spermaplazmájában vagy cervikális nyákjában jelen levő antitestekkel reagál, s ezzel az antigénnel latex-agglutinációs és ELISA-kiteket hozott forgalomba [3, 5].

Az I. sz. Női Klinikán évtizedek óta folyik donor inszemináció, friss sperma felhasználásával 30–35%, az utóbbi időben — az AIDS terjedésének megakadályozására —, csak fagyasztott sperma alkalmazásával, 15–20% terhességi aránnyal. Egyes asszonyok többszöri inszemináció után sem esnek teherbe, noha minden vizsgálati eredményük negatív. Mivel ezen nők a férjek azoo-, illetve oligozoospermiája miatt elvileg kisebb spermiumingernek vannak kitéve, mint az átlag populáció, az immunológiai eredetre sokáig nem gondoltunk. A latex-agglutinációs és ELISA-tesztek kidolgozásával azonban a sperma antitestek a korábbi módszerekhez képest nagyobb megbízhatósággal és egyszerűbben mutathatók ki, és a különböző laboratóriumok eredményei is összevethetőek. Elhatároztuk, hogy a meddőségi szakrendelésen rutinszerűen megvizsgáljuk a donor inszemináltak cervikális nyákját latex-agglutinációs teszttel és a vérsavókat ELISA-módszerrel.

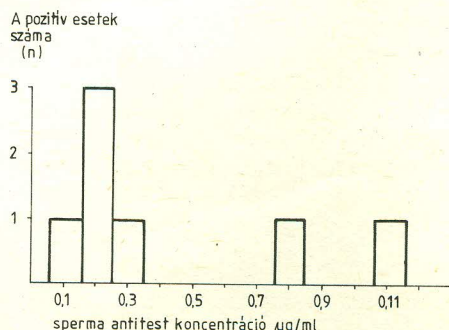
Beteganyag és módszer

A Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Női Klinika Meddőségvizsgáló Osztályán donor inszemináció céljából jelentkező 87 nő cervikális nyákját szívtuk le kapilláris csőbe, valamint 20 betegől vérsavót is gyűjtöttünk. A cervikális nyákból a spermaantitestek meghatározására a Biotec Diagnostica (Hannover, NSZK) által forgalomba hozott „Spermaantitest-gyorstesztet” használtuk fel. A nyákok speciális pufferben 1/100 szorosára hígítottuk és feloldottuk, majd 1000 g-vel 10 percig centrifugáltuk. A felülúszó 20 µl-éhez 10 µl antigén szuszpenziót mértünk, majd néhányszor körkörösén mozgattuk, a meghatározáshoz mellékelt sötét színű lemezen, s 2–5 perc múlva leolvastuk a reakciót, majd összevetettük a beállított pozitív és negatív kontrollokkal. Pozitív esetben a nyákokat tovább hígítva megállapítottuk a titerét. A latex-agglutinációs teszt specificitása a WHO mérései szerint 95%.

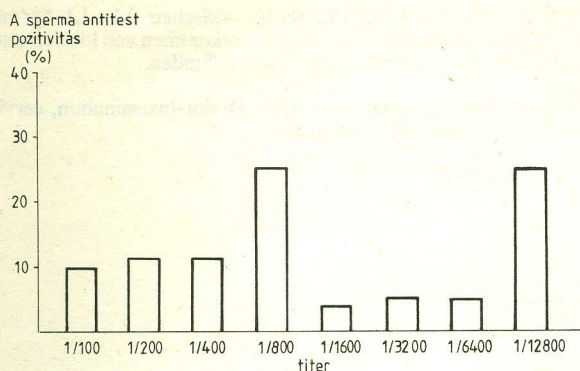
20 beteg vérsavójából „Spermaantitest EIA” kittel (Biotec Diagnostica, Hannover, NSZK) határoztuk meg az ellenanyagszinteket, a használati utasításban foglaltak szerint. A teszt érzékenysége 100%, a WHO mérései szerint.

Eredmények

87 donor inszeminált nő cervikális nyákját szívtuk le az ovulációs ciklus közepén, majd latex-agglutinációs módszerrel meghatároztuk a spermaantitest titerét. 30 betegnél (34%) mutattunk ki spermiumok ellen termelt ellenanyagot. A titerek 1/100 és 1/12800 között váltakoztak, a betegek 60%-nál az ellenanyagszintek magasak voltak (1/800–1/12800) (1. ábra).



1. ábra. 87 donor inszeminált nő cervikális nyák spermaantitesttiteré latex-agglutinációs módszerrel



2. ábra. A spermaantitesttiter alakulása a donor inszeminált nőknél ELISA-módszerrel (n=20)

7 betegnél (33,3%) ELISA-módszerrel mutattunk ki spermaantitesteket a vérsavóból, az ellenanyag mennyisége 0,1–1,1 µg/ml között váltakozott (2. ábra). Csak 3 betegnél fordult elő együttesen a cervikális nyákban és a vérplazmában is ellenanyag.

Megbeszélés

A spermaantitestek kimutatására számos agglutinációs és immobilizációs teszt használatos, ezek hátránya az, hogy nem elég specifikusak, a kiértékelés mikroszkóppal történik és az eltérő részlépések és körülmények miatt az egyes laboratóriumok eredményei nem hasonlíthatók össze [1, 2, 3, 4]. A postcoitalis tesztek a spermiumok penetrációjának megítéléséhez jól használhatók, de pszichésen a betegeknek problémát jelent a vizsgálat, s rutinmódszerként való bevezetésre nem alkalmas [3, 5, 7].

A monoklonális ellenanyagok felfedezése lehetővé tette a spermiumok felszínén lévő antigének feltérképezését. Sikertült egy olyan 40000 dalton molekulású sialoglikoproteint izolálni, amely egyes meddő párok spermaplazmájában és cervikális nyákjában jelenlevő ellenanyaggal kapcsolódik [3, 5]. A Biotec Diagnostica ezt az antigént használta fel latex-agglutinációs és ELISA-teszt kifejlesztéséhez. Az egyszerűen kivitelezhető, megbízható, specifikus és bármely laboratóriumban és rendelésben alkalmazható tesztek bevezetésével az immunológiai eredetű meddőség széles körű szűrésére adnak lehetőséget.

87 donor inszeminációban részt vevő nő cervikális nyákjában 34%-ban találtunk spermaantitesteket latex-agglutinációs módszerrel, ELISA-val 33,3%-ban találtunk pozitívítást a vérsavókban. Csak 3 betegnél fordult elő együttesen a vérsavóban és a nyákban is spermaantitest. A cervikális nyákban az esetek 60%-ában magas, 1/800–1/12800 közötti titereket mérünk. Összehasonlítva az átlagos meddő populációval a klinikánkon, 68 meddő nőből 20-nál (29%) találtunk spermaantitesteket, s a titerek szintén 60%-ban magasak voltak. Meddő férfiaknál 95 főből 25-nél (26%) mutattunk ki autoimmun eredetű spermaantitesteket, de az ellenanyagszintek itt alacsonyok voltak, egy esetben sem érte el az 1/800-as értéket [7].

A donor inszeminált nők a férjek azoo-, vagy oligozoospermiaja miatt kevesebb spermiumingerrel találkoznak, egy részük az ismételt inszeminációk után sem

esik teherbe. Az immunológiai eredetre sokáig nem gondoltunk, a latex-agglutinációs és ELISA-tesztek forgalomba hozatalával az immunológiai eredet kimutatása jóval könnyebbé vált, így a donor inszeminált asszonyok kivizsgálását kiegészítettük spermaantitestre való teszteléssel. Meglepően magas arányban kaptunk spermaantitest pozitívítást, ami felveti annak a lehetőségét, hogy az inszeminációk során tulajdonképpen immunizálást is végzünk egyúttal az érzékeny betegeknél. Mivel a GIFT és az IVF donor spermával Magyarországon nem végezhető, ezért csak az immunszuppresszió inszeminációval marad a megoldás terápiaként a donor inszeminációra váró nőknél.

IRODALOM

- Alexander, N. J., Anderson, D. J.: Immunology of semen. Fertil. Steril. 47, 192–205 (1987).
- Carson, S. A., Reiher, J., Scomegna, A., Prins, G. A.: Antibody binding patterns in infertile males and females as detected by immunobead test, gel-agglutination test and sperm immobilization test. Fertil. Steril. 49, 487–492 (1988).
- Czuppon, A., B.: Clinical evaluation of the new sperm antibody mucus and seminal plasma. J. Clin. Chem. Biochem. 26, 35–38 (1988).
- Czuppon, A. B., Mettler, L.: 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).
- Czuppon, A. B., Maas, D.: Az immunológiai eredetű meddőség diagnózisa és kezelése. MNT Meddőségi Sectio 1989. máj. 20-i ülése.
- Jager, S., Kremer, J., van Slochteren-Draaisma, T.: Detection of spermatozoal surface IgG with the direct mixed antiglobulin reaction carried out on untreated fresh human semen. Int. J. Fertil. 23, 12–23 (1978).
- Nagy B., Corradi Gy., Gimes R., Veres I., Czuppon, A. B., Csömör S.: Tapasztalataink a latex-agglutinációs spermaantitest kimutatásával. MNT Meddőségi Sectio 1989. máj 20-i ülése.
- Perkedi Gy., Juhász Gy., Demeter J., Gáti I.: Spermaantitestek kimutatása módosított antiglobulin-konzumpciós technikával. Magy. Nőorv. L. 51, 108–111 (1988).
- 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).
- Schumacher, G. F. B.: Immunology of spermatozoa and cervical mucus. Human Reprod. 3, 289–300 (1988).
- Wolff, H., Schill, W. B.: Determination of sperm antibodies in human genital secretions by ELISA technique. Hu. Reprod. 3, 223–225 (1988).

Надь, Б., Гимеш., Р., Иновай, Й., Сендеи, Г., Пулай, Т., Цуппон, А.: Антителы спермы у женщин после инсеминации.

Авторы исследовали 87 женщин после донор-инсеминации. В 43%-ах случаев антителы спермы были отмечены в секрети канала шейки с агглютинирующим тестом. Эти же антителы были определены в сыроворотке крови в 33,3%-ах случаев с методом. Титеры были 1/100 и 1/12 800 в секрети канала шейки и 0,1–1,1 микрог/мл в крови. Никакой связи не отмечалась между проявлением локального и систематического антитела.

Ключевые слова: антителы спермы, донор-инсеминация, секрети канала шейки, агглютинация

Nagy, B., Gimes, R., Inovay, J., Szendei, Gy., Pulay, T., Czuppon, A.: Detection of sperm antibodies in donor inseminated women

The authors studied the occurrence of sperm antibodies in 87 donor inseminated patients and found 34% positivity in the cervical mucus by latex agglutination and 33,3% positivity in the blood sera by ELISA method. The titers varied in the cervical mucus between 1/100 and 1/12800 and 0,1–1,1 µg/ml in the sera. The local and systemic sperm antibody production did not show any correlation.

Key words: sperm antibody, donor insemination, cervical mucus, latex agglutination

Nagy, B., Gimes, R., Inovay, I., Szendei, Gy., Pulay, T., Czuppon, A.: *Nachweis von Sperma-Antikörpern bei inseminierten Donor-Frauen*

Bei 87 inseminierten Donor-Frauen wurden mit einem Latex-Agglutinationstest im cervikalem Schleim zu 43% Sperma-Antikörper nachgewiesen, mit der ELISA-Methode im Blutplasma zu 33,3%. Die Titer schwankten im cervikalem Schleim zwischen

1/100 und 1/12800, im Blutplasma zwischen 0,1–1,1 *g/ml. Einen Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von lokalen und asystematischem Sperma wurde nicht gefunden.

Schlüsselwörter: Sperma-Antikörper, Donor-Insemination, cervikaler Schleim, Latex-Agglutination

Közlésre elfogadva: 1989. július 28.