

## Spermium izolálási technikák összehasonlító vizsgálata

NAGY BÁLINT DR., CORRADI GYULA DR., PULAY TAMÁS DR.,  
GIMES REZSŐ DR., CSÖMÖR SÁNDOR DR.

*A Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Női Klinikája (igazgató: Csömör Sándor dr., egyetemi tanár) és Urológiai Klinikája (igazgató: Frang Dezső dr., egyetemi tanár)<sup>1</sup> közleménye*

**Összefoglalás:** a szerzők 35 férfi ondóját (15 normozoospermiás és 20 oligozoospermiás) vizsgálták meg a hagyományos sperma paraméterekre, majd három spermium izolálási technikával (egyszeri felülúsztatás, kétszeri centrifugálás és azt követő felülúsztatás, és a nátrium hialuronátos kezelés) nyert spermiumok számát, motilitását és morfológiáját hasonlították össze. A spermium izolálási technikák közül a nátrium hialuronátos (Sperm Select) kezelést találták a legalkalmasabbnak a nagyszámú, jó motilitású és morfológiájú spermiumok izolálására. A szerzők javasolják a fenti technikák valamelyikének bevezetését a rutin andrológiai és megtermékenyítő-képességi vizsgálatok sorába.

*Kulcsszavak:* spermium, felülúsztatás, centrifugálás, izolálás

A spermiumok izolálását számos kórkép kezelésére használjuk, az oligozoospermia, a retrograd ejakuláció, a hypospadiasis, a vaginizmus, a cervikális nyák hiánya, a sperma-antitestek okozta immunológiai eredetű meddőség, a sperma plazma kóros összetétele, a pszichológiai eredetű és gyógyszerfüggő impotencia, nem beszélve az *in vitro* fertilizáció (IVF) és gaméta intrafallopian transferről (GIFT), amely programok csak a tápoldattal előkezelt spermiumok felhasználásával működhetnek. A genitális traktuson végighaladó spermiumok mentesek lesznek a sperma plazmától és megtermékenyítésre alkalmas állapotba kerülnek, vagyis a kapacitáció és az akroszóma reakció lezajlik. A sperma plazma olyan anyagokat tartalmaz, amelyek gátolják a kapacitációt [4] vagy mint a prosztaglandinok, a méh izomzatának görcsös összehúzódását okozzák. Kimosásukra, eltávolításukra gyakran alkalmazzák a human és az állatorvosi gyakorlatban is a tápoldattal való centrifugálást, a szűréseket, a migrációs eljárásokat [11,12,19]. Mortimer és Templeton 0-22.000 spermium jelenlétét detektálták a méh üregében közösülés után [16], a különböző spermium izolálási technikákkal ennél jóval magasabb sejtszámú oldat juttatható a méh üregébe, s növelhető a megtermékenyítés esélye, *in vitro* megtermékenyítéshez legalább 200.000 spermium /petesejt szükséges

Gyakran alkalmazott módszer a tápoldattal való mosás és centrifugálás. Az irodalomban eltérőek a vélemények, Jones szerint az intracelluláris organellumok a spermiumokban károsodhatnak [9] ekkor, Makler és Jakobi viszont azt állítja, hogy az alacsony fordulatszámon történő centrifugálás nem befolyásolja a motilitást és a túlélést [13]. Mindenesetre az ilyen kezeléseknél nagyarányú a veszteség a sejtszámban, az eredeti 0,1-0,2—ed részére csökken a mozgó sejtek aránya [7].

Vannak olyan migrációs eljárások, amelyek nagyobb mozgó spermium arány kinyerését teszik lehetővé. Ilyenek az albumin oszlopos elválasztások, a human nyákban való penetráltatás és az utóbbi időben került

alkalmazásra a nátriumhialuronátos elválasztás. Az utóbbi anyag a human cervikális nyákot utánozza, széles felépítésű, a viszkozitása magas és így csak a jó motilitású és szerkezetű spermiumok képesek benne a felhatolásra. Penetrációs tesztként is alkalmas a felhasználásra.

Vizsgálataink során háromféle laboratóriumi technikát alkalmaztunk, a tápoldatban való felülúsztatást, a kétszeri centrifugálást követő felülúsztatást és a nátrium hialuronátos kezelés után kapott eredményeket hasonlítottuk össze.

### Anyag és módszer

35 férfi ondóját vizsgáltuk meg, a besorolást a WHO előírásainak megfelelően végeztük el [20]. Az ondót öt nap carientia után onaniációval ürítették a betegek, majd félóra elfolyósodási idő után a sejtszámot, motilitást, szerkezetet, biokémiai vizsgálatokat elvégeztük.

*Felülúsztatásos módszer,* 1 ml spermára 0,75 ml Ham's F—10 tápoldatot (Seromed, NSZK) 10% fótálsavóval kiegészítve rétegeztünk, majd 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk.

*Kétszeri centrifugálás és felülúsztatás,* 1 ml spermához 3 ml 10%-os fótálsavóval kiegészített Ham's F—10 tápoldatot mértünk, majd összekeverés után lecentrifugáltuk 500 g-vel 10 percig, majd a csapadékot 3 ml tápoldatba vettük fel, a centrifugálást megismételtük. A felülúsztot leszívtuk, majd 0,75 ml tápoldatot rétegeztünk óvatosan a csapadékra és 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk, itt a sperma plazmától tökéletesen megtisztul az anyag.

*Nátrium hialuronátos kezelés (Sperm Select, Pharmacia, Svédország),* 1 ml spermára 0,5 ml 1 mg/ml nátrium hialuronátot tartalmazó Ham's F-10 oldatot rétegeztünk, majd 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk.

Mind a három eljárás után meghatároztuk a sejtszámot, motilitást és morfológiát, az adatokat BMDP programcsomag segítségével dogoztuk fel, a szignifikancia szintjét  $P=0,05$  értékben határoztuk meg [6].

### Eredmények

A három spermium szétválasztási módszerrel kapott eredményeinket az *I. táblázat* mutatja. A felülúsztatá-

