

Andrea Schindlmayr
Dr. med.

In vitro Beeinflussbarkeit lokaler Antispermatzoenantikörper durch verschiedene Aufarbeitungsmethoden unter Zugrundelegung der Mixed Antiglobulin Reaction (MAR) als Nachweismethode

Geboren am 3.08.1966 in Heidelberg
Reifeprüfung am 21.05.1985 in Weinheim
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1985/86 bis SS 1993
Physikum am 15.03.1988 an der Universität Gießen
Klinisches Studium in Gießen und Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Staatsexamen am 11.11.1993 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Frauenheilkunde
Doktormutter: Frau Priv.-Doz. Dr. med. W. Eggert-Kruse

Aufgrund der klinischen Bedeutung von lokalen Antispermatzoenantikörpern (ASA) wird häufig die Frage nach einer effizienten Therapie gestellt. In dieser Studie sollten die klinische Relevanz der ASA-Bindungen, sowie insbesondere verschiedene Spermaaufarbeitungsmethoden bei ASA positiven Samenproben evaluiert werden, um eine potentielle in vitro-Beeinflussbarkeit zu untersuchen. Es wurden unselektiert insgesamt 214 Patientenpaare, bei denen im Median über 4 Jahre ein unerfüllter Kinderwunsch bestand, in die Studie aufgenommen. Zur Detektion lokaler ASA vom Typ IgG und IgA im Sperma wurde der direkte Mixed Antiglobulin Reaction (MAR)-Test insgesamt 1085 mal angewandt, der ab einem Testergebnis $\geq 30\%$ als positiv, ab 60% als hochpositiv gewertet wurde. Beim MAR-IgG Test zeigte sich in $12,6\%$ und beim MAR-IgA Test in $6,5\%$ der Proben ein positives Ergebnis. Zwischen den Ergebnissen des MAR-IgG- und IgA-Test bestand eine deutliche Korrelation ($r=0,6$, $p=0,01$). Die Spermienprogressivmotilität stand in signifikantem Zusammenhang mit lokalen IgG-ASA, während bezüglich der anderen Spermiogrammparameter, der Ergebnisse der mikrobiellen Ejakulatuntersuchungen, sowie der körperlichen Untersuchungsbefunde keine signifikanten Zusammenhänge bestanden. Bei Paaren, bei denen der MAR-IgG Test stark positiv ausfiel, fand sich deutlich seltener ein guter Postkoitaltest (PCT), bei hoch positivem MAR-IgA in keinem Fall ein guter PCT. Neben einem fraktionierten Sammeln in zwei Portionen als sogenanntes Split-Ejakulat wurde eine einfache „Waschung“ mit Phosphat gepufferter Salzlösung (PBS), eine Aufarbeitung mittels „Swim-up“ Methode, sowie eine Filtration durch eine Plastik-Filter-Säule (PFS) durchgeführt. Insgesamt wurden 117 Samenproben aufgearbeitet. Bei der *Spermaaufarbeitung mit PBS* zeigte sich eine Beeinflussbarkeit der MAR-IgG Ergebnisse, aber keine signifikante Änderung der MAR-IgA Resultate, wobei die überwiegende Mehrzahl hochpositiver IgG Proben weiterhin im pathologischen Bereich lag. Die Spermienprogressivmotilität verschlechterte sich durch die PBS-Aufarbeitung signifikant ($p=0,0001$). Bei der *Aufarbeitung mittels „Swim-up“* zeigte sich nur eine leichte Minderung der MAR-IgG Werte, jedoch eine stärkere Reduktion der IgA Testergebnisse. Die Spermienprogressivmotilität zeigte sich durch die Selektion gut motiler Spermien nach dem Swim-up deutlich verbessert ($p<0,0001$). Die hier erstmals eingesetzte Aufarbeitung mittels *Durchlauf durch eine Plastik-Filter-Säule (PFS)* ergab sowohl für lokale IgG als auch IgA ASA keine Veränderung. Die Übersichtlichkeit der MAR-Testansätze konnte durch eine Herausfilterung größerer Spermabestandteile jedoch verbessert werden. Die Spermienmotilität wurde durch diese Spermaaufarbeitung nicht verändert. Bei den als *Split-Ejakulat* aufgefangenen Spermproben konnten bezüglich der Spermienanzahl und der Progressivmotilität in der ersten Fraktion bessere Werte gefunden werden. Die lokalen ASA waren in der ersten und zweiten Portion des Split ejakulats dagegen nicht signifikant verschieden. Durch eine weitere Versuchsreihe, bei der Seminalplasma MAR-positiver Proben mit ASA negativen Spermatozoen inkubiert

wurde, konnte die Bindungsfähigkeit von frei im Seminalplasma vorhandenen ASA an Spermatozoen gezeigt werden. Insgesamt konnte durch keine dieser Aufarbeitungen eine vollständige Entfernung, sondern nur teilweise eine Reduktion der lokalen ASA gemessen werden, wobei die Aufarbeitung mittels „swim-up“ von den hier untersuchten Verfahren, z.B. im Hinblick auf einen Therapieversuch durch Methoden der assistierten Reproduktion, am günstigsten erscheint, da eine Selektion gut motiler Spermien bei verminderter Menge lokaler ASA möglich erscheint. Dies sollte jedoch an größeren subfertilen Kollektiven, insbesondere bei Patienten mit stark ASA positivem Sperma, im Hinblick auf die Fertilitätsprognose in weiteren zukünftigen Untersuchungen bestätigt werden.