

## VARİKOSEL VE ANTİSPERM ANTİKORLAR: DİREKT İMMÜNOBEAD YÖNTEMİ İLE DEĞERLENDİRME

### *VARICOCELE AND ANTISPERM ANTIBODIES: EVALUATION BY DIRECT IMMUNUBEAD METHOD*

OKUDUCU, Y., ÇAŞKURLU, T., TAŞCI, A.İ., SEVİN, G., RESİM, S.

#### **GİRİŞ**

Varikoselin çeşitli mekanizmalar yanında antisperm antikörlerin oluşumuna yol açarakta infertiliteye yol açabileceği düşünülmektedir. İmmünolojik infertilite araştırmasındaki yeni metod ve tekniklerin sensitivitesi ve spesifitesi eski tekniklere göre daha yükselmiştir. Bu testlerden birisi olan direkt immüno bead yöntemi ile 50 infertil varikoselli ve 24 fertil varikoselli, 46 infertil varikoselsiz hastada sperme bağlı immüno globülinleri araştırdık.

Sperme bağlı immüno globülinler, varikoselli infertil grupta %44, varikoselli fertil grupta %29.1, varikoselsiz infertil grupta %15.2 oranlarında pozitif olarak tesbit edildi. Ayrıca direkt immüno bead testi pozitif olan varikoselli infertil hastaların sperm konsantrasyonları normal hareketli ve normal morfolojili sperm oranlarının immüno bead testi negatif hastalara oranla belirgin düzeyde azaldığı tesbit edildi.

Bu bulgular; varikoselin, diğer mekanizmalar yanında antisperm antikör düzeyini artırarak immünolojik mekanizma ile de infertilite oluşumuna yol açabileceğini düşündürmektedir.

#### **SUMMARY**

Besides of various mechanisms and theories about etiology of infertility in varicocele, it is thought that, antisperm antibody and immunologic infertility mechanism may be cause of infertility. The sensitivity and specificity of new immunologic infertility tests higher than old tests. We searched for sperm bound immunoglobulins in 50 infertile men with varicocele, 46 infertile men without varicocele and 24 fertile men with varicocele by use of direct immunobead binding assay.

Sperm bound antisperm antibodies were determined at 44% of infertile with varicocele group, 29.1% of fertile with varicocele group and 15.2% of infertile without varicocele group. We also determined that sperm concentration, percent of normal motility and morphology had significantly decreased in the immunobead test positive patients than immunobead test negative patients.

In the light of these findings, we can say that besides of other factors, varicocele may contribute to the etiology of infertility through immunological mechanism by increasing the amount of antisperm antibodies.

**ANAHTAR KELİMELER:** Varikosel, infertilite, antisperm antikörler, immüno bead.

**KEY WORDS:** Varicocele, infertility, antisperm antibodies, immunobead.

## GİRİŞ

Varikozel, pleksus pampiniformisteki venlerin anormal dilatasyonu olup, tüm infertil hastaların %30-40'ında tesbit edilir (1). MacLeod varikozelindeki anormal sperm karakteristiklerini; oligospermi, astenospermi, tapered formu sperm oranında artış ve immatür germ hücrelerinde sayıca artışı olarak tarif etmiş ve bu özellikleri stress paterni olarak tanımlamıştır (2), ancak bu özellikler varikozele özgü olmayıp varikozelsiz infertil hastalarda da bulunabilmektedir (3). Varikozele bağlı infertilitenin kesin mekanizması bilinmemekle beraber vena spermadaki kanın reflüsü, hipoksi ve hipertermi infertilite nedenini açıklayan başlıca hipotezler olmuşlardır (1,3). Son yıllarda varikozelli infertil hastalarda antisperm antikörlerinin (ASA) infertilite fizyopatolojisinde etkili olabileceği ileri sürülmüştür (4,5). Ancak immüno-bead testi ile araştırılan sperm yüzey antikörleri varikozelli ve varikozelsiz infertil hastalarda farklılık göstermediği görüşünde olması bu konu üzerinde önemle durmayı gerekli kılmıştır (6).

Bu çalışmada, varikozel - antisperm antikörler arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla varikozelli infertil, varikozelli fertil ve varikozelsiz infertil hastalar üzerinde direkt immüno-bead yöntemi kullanılarak antisperm antikör ölçümleri yapılmış ve gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

## MATERYAL VE METOD

Çalışma kapsamına infertil varikozelli 50, infertil varikozelsiz 46 ve fertilitesi kanıtlanmış 24 varikozelli hasta dahil edilmiştir. Varikozelli gruplar grade 2 ve 3 varikozelli olanlar seçilmiş, değerlendirme hatalarını minimize etmek için grade 1 olanlar çalışma dışı bırakılmış ve varikozel tanısı fizik muayene bulgularına göre yapılmıştır.

Scrotal travma, testis torsiyonu, inmemiş testis ve daha önce testis biopsisi hikayesi olan hastalarda bu olaylar muhtemel ASA yüksekliğine sebep olabileceğinden çalışma kapsamına alınmamıştır. Hastalardan 3 günlük cinsel perhiz ardından alınan sperm liquifactiondan sonra iki kısma ayrılarak bir kısmından semen analizi, diğer kısmından immüno-bead ile antisperm antikör ölçümleri yapılmıştır.

Semen analizleri için WHO kriterlerine göre (7) standart inceleme yapılmıştır. Direkt immü-

nobead standart tanımlanmış (8) yöntemine göre yapılmıştır. Bunun için IgG ve IgA immüno-beadları önce fosfat ile tamponlanmış, serum fizyolojik ile yıkayıp 10 dakika 800 devirde santrifüje edildi. Sonra bu materyelden 2 ml. Bovin serum albümin ile karıştırıldı. Liquifiye semenden 0.1 ml alınıp 2 ml Bovin serum albümin ile karıştırıldı bu süspansiyon 800 devirde 8 dakika santrifüje edildi. oluşan pellet Bovine serum albümin ile yeniden 0.4 ml'ye tamamlanarak aynı santrifüj yinelenildi. 0.0005 ml sperm-serum süspansiyonuna 0.05 ml immüno-bead süspansiyonlarından karıştırılıp, materyel lama alındı ve faz kontrast mikroskobu ile 100 sperm incelenerek immüno-beadların bağlanma yerleri ve miktarları tesbit edildi. Test %20 veya daha fazla motil sperme bağlanan immüno-beadlar olması halinde pozitif kabul edildi. Sperm kuyruk ucuna bağlananlar değerlendirme harici tutuldu (8).

Sonuçların istatistiksel analizi "Student t" testi ve "x<sup>2</sup>" testi ile yapılarak yorumlandı.

## BULGULAR

Sperme bğli immüno-globulinler infertil varikozelli hastaların 22'sinde (%44), fertil varikozelli hastaların 7'sinde (%29.1) ve varikozelsiz infertil hastaların 7'sinde (%15.2) pozitif olarak bulundu (Tablo 1).

Antisperm antikör pozitif varikozelli infertil hastalarda total sperm sayısı, hareketli sperm sayısı ve normal morfolojili sperm sayısı, antisperm antikör negatif olanlara göre daha düşük olarak tesbit edilmiş ve aradaki farkların istatistiksel anlamlı olduğu görülmüştür (Tablo 2).

## TARTIŞMA

Varikozel genel popülasyonda %15 olarak bildirilirken infertilite sebebiyle araştırılanların 1/3'ünde bulunur (1,9). Vazektomi, testis travmaları, duktus obstrüksiyonları, testis biopsisi, testis torsiyonu ve epididimitlerde ASA oluştuğu bildirilmektedir (4). Bütün bu durumlarda ASA'ların oluşmasında kan-testis bariyerinin bozulması sözkonusudur ki oluşan ASA'lar spermatogenesis, sperm transportu, sperm motilitesi, kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu, zona pellucidanın penetrasyonu ve implantasyonu aşamalarında negatif yönde etkiler göstererek infertiliteye neden olabilmektedir (8).

**Tablo 1:** Direkt immüno bead testi sonuçları.

	Hasta sayısı	ASA (+)	ASA (-)
Varikoselli infertil	50	22 (%44)	28 (%56)
Varikoselli fertil	24	7 (%29.1)	17 (%70.9)
Varikoselsiz infertil	46	7 (%15.2)	39 (%84.8)
	p<0.01		x <sup>2</sup> : 9.69

**Tablo 2:** ASA pozitif ve negatif infertil varikoselli hastalarda sperm karakteristikleri..

	ASA (+)	ASA (-)	Anlamlılık
Semen hacmi (mm)	3.1±0.7	3.1±0.6	anlamsız
Sperm konsantrasyonu (Milyon/ml)	11.9±3.1	17.5±4.5	p 0.01
Motil sperm oranı (%)	22.5±8.8	35.8±10.3	p 0.01
Normal morfoloji (%)	30.2±5.4	41.7±9.9	p 0.01
	p 0.01		

Varikoselin infertiliteye neden oluşu hakkında, reflüye bağlı toksik maddelerin testise zararı, scrotumda ısı artışı gibi bazı teoriler yanında son yıllarda; ASA'ları oluşturarakta infertiliteye neden olabileceği ileri sürülmüştür. ASA'ların infertil varikoselli hastalardaki insidensini Özen ve ark. indirekt immüno floresans metodu ile %25 (10), Golomb ve ark. ELİZA ile %38 (5), Gilbert ve ark. %32 (4) oranında tesbit etmişlerdir. Ancak bu çalışmaların aksine; varikoselli ve varikoselsiz infertil hastalarda immüno bead yöntemi ile yapılan ASA araştırmalarında anlamlı farklılıklar bulunmadığı da bildirilmiştir (6, 11). Varikoselli infertil hastalarda ASA'ların yüksek bulunduğunu bildiren araştırmalar incelendiğinde bunların ELİZA immüno floresan yöntemiyle yapılanlarda (4,5,10) teknik olarak sperm fiksasyonu gerekmekte ve bu işlemler sırasında sperm internal antijenlerini açığa çıkartıp yalancı pozitif ve

ya negatif neticeler oluşturduğu artık genel kabul görmektedir (8).

Yine daha önceki çalışmalarda ASA (+) ve ASA (-) varikoselli hastalarda semen kalitesinde önemli bir fark olmadığı bildirilmiştir (5,6). Ancak farklı olarak bizim çalışmamızda sperm kalitesini gösteren motilite ve morfoloji ve sayıda da anlamlı azalmalar tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak immüno bead testi sperm yüzey antikorlarını gösteren hassas bir testtir. Varikoselli infertil hastalarda %44 oranında pozitif olarak tesbit edilmesi ve diğer varikoselsiz fertil ve varikoselli fertil hastalardan istatistiksel olarak farklı bulunması varikoselde diğer faktörler yanında immüno lojik mekanizmalarında infertilite oluşturabileceğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR

- 1) **Pryor, J.L., Howards, S.S.:** Varicocele. Urol. Clin. North. Am., 14: 499, 1987.
- 2) **MacLeod, J.:** Seminal cytology in the presence of varicocele. Fertil. Steril. 16: 735, 1965.
- 3) **Turner, T.T.:** Varicocele: Still an enigma. J.Urol., 129: 695, 1983.
- 4) **Gilbert, B.R., Witkin, S.S., Goldstein, M.:** Correlation of spermbound immunoglobulins with impaired semen analysis in infertile men with varicocele. Fertil. Steril. 52: 469, 1989.
- 5) **Golomb, J., Verdion, N., Homonnai, Z.T., Braf, Z., Yusuf, I.:** Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele related infertility with ELISA. Fertil. Steril., 45: 397, 1986.
- 6) **Oshinsky, G.S., Rodriguez, M.V., Mellinger, B.C.:** Varicocele related infertility is not associated with increased sperm bound antibody, J.Urol., 150: 871, 1993.
- 7) World Health organization Laboratory Manuel for the examination human semen and cervical mucus interaction. Cambridge University press, 2nd ed., Cambridge, 1987.
- 8) **Mandelbaum, S.L., Diamond, M.P., Cherner, A.H.:** The impact of antiseprn antibodies on human infertility. J.Urol., 138: 1, 1987.
- 9) **Saypol, D.C., Lipshultz, L., Howard, S.S.:** Varicocele. In: Infertility in the male. Edited by L. Lipshultz and S.S. Howards. New York: Churchill Livingstone, Chapt. 15, 313-336, 1983.
- 10) **Özen, H., Asar, G., Güngör, S.:** Varicocele and antisperm antibodies. Int. Urol. Nephrol., 17: 97, 1985.
- 11) **Jarow, J.P., Sanzone, J.J.:** Risk factors for male partner antisperm antibodies. J. Urol., 148: 1805, 1992.