

# ANTI-SPERM ANTİKOR (ASA) VE İNFERTİLİTE: SERUM ASA POZİTİFLİĞİNİN FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİSİ

## ANTI-SPERM ANTIBODY (ASA) AND INFERTILITY: THE EFFECT OF ASA IN SERUM ON FERTILITY

ODABAŞ, Ö., YILMAZ, Y., AYDIN, S., ATAN, A., ONUR, D.

### ÖZET

Bu çalışmada idiopatik infertilite nedeniyle araştırılan eşlerdeki serum ASA pozitifliğinin belirlenmesi ve fertilité üzerine olumsuz etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Oligoastenospermik veya normospermik 16 infertil hasta ve eşi çalışma grubuna alınmıştır. 18 fertil çift kontrol grubunu oluşturmuştur. Her iki gruptaki çiftlerin herbirinde immunfloresan teknikle serum ASA pozitifliği araştırılmıştır. Sonuçlar ki kare testi ile değerlendirilmiş ve literatür eşliğinde tartışılmıştır.

Dolaşımdaki ASA pozitifliği yönünden infertil çiftlerle fertil çiftler arasında anlamlı bir fark vardır ( $p<0.01$ ). Eşler ayrı ayrı değerlendirildiğinde infertil kadınlarla fertil kadınlar arasında anlamlı bir fark bulunurken ( $p<0.05$ ), infertil ve fertil erkekler arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). ASA(+) erkek hastalarda ASA(-) erkek hastalar arasında sperm hareketliliği yönünden anlamlı fark yoktur.

Dolaşımdaki ASA varlığının fertilité üzerine olumsuz etkisinin olduğu düşünülmüştür.

### ABSTRACT

The aim of this study is to investigate of anti-sperm antibodies (ASA) in serum and its negative effect on human fertility in the couples examined for infertility.

The study group consisted of 16 infertile patients with oligoasthenospermia or normospermia and their wives, while the control group consisted of 18 fertile couples. ASA was determined in serum by immun-flourosceine technique. The statistical analysis of the results were done by ki square test and discussed reviewing the literature.

There was a significant difference between fertile and infertile couples on account of circulating ASA ( $p<0.01$ ). When men and women were evaluated separately, a significant difference was found between infertile and fertile women ( $p<0.05$ ) but not so between men ( $p>0.05$ ). There was not a significant difference between (+) and ASA (-) men on account of sperm activity.

The data indicate that fertility is negatively affected by circulating ASA.

**ANAHTAR KELİMELER:** Anti sperm antikor, serum, infertilite

**KEY WORDS:** Anti sperm antibody, serum, infertility

## GİRİŞ

Fertilite problemi olan çiftlerde serumda ASA varlığı ve bunun fertiliteye olan etkisiyle ilgili hâlâ tartışmalar vardır.<sup>1,2,3</sup> Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, lokal antisperm antikorların dolaşımındaki ASA'lara göre fertilitte üzerine olan etkilerinin daha çok olduğu gösterilmesine rağmen, immün infertilite araştırılmasında serumdan ASA saptanması halen yaygın olarak kullanılmaktadır.<sup>4,5,6</sup>

İlk kez Rümke<sup>7</sup> ve Wilson<sup>8</sup> birbirlerinden bağımsız olarak yaptıkları çalışmalarda bazı infertil erkeklerde spermelere karşı antikor saptamışlar, bunlarda sperm aglütinasyonu ve spermin servikal mukustaki hareketinin engellendiğini göstermişlerdir. 1959'da Rümke ve Helling<sup>9</sup> ejakülattaki sperm aglütinasyonunun varlığı ile testisin efferent duktuslarının oklüzyonu arasında güçlü bir ilişki bulmuşlardır. Daha sonra, kemiricilere inoküle edilen sperm antikorlarının fertilitiyi azalttığı gösterilmiştir.<sup>10</sup>

Tarihsel gelişimine baktığımızda ASA insidansı ve fertilitedeki sorumluluğu ile ilgili ilk iddialar abartılıdır. Bu durum sperm hücrelerinin antijenik doğası ve immün cevabın kompleksliği ile ilgili yeterli bilgi olmaması yanında, ASA'nın uygun olmayan metodlarla bakılmasından da kaynaklanmıştır. Bu faktörlerle birlikte iyi tasarlanmış kontrollü deneysel çalışmaların olmaması ve etkili bir tedavinin bulunmaması ASA'nın varlığı ve infertilitedeki rolüyle ilgili karmaşaya neder olmuştur. Sonuçta pek çok klinisyen ASA'nın infertilitedeki olası rolünü ve infertil çiftlerde ASA araştırılmasını reddetmişlerdir. Daha sonra güvenilir laboratuvar metodlarındaki gelişme ile birlikte ASA'nın infertilitedeki rolünde berraklaşma, yardımcı üreme teknolojisinde ve immün infertilite tedavisinde gelişmeler olmuştur.

Bu çalışmada erkek ve kadın infertilitesinde serum ASA pozitifliğinin rolünü daha belirginleştirmek ve idiopatik infertilite araştırmasında eşler arasındaki ASA pozitifliği oranını saptamak amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD:

İdiopatik infertilite araştırılması esnasında şiddetli olmayan oligoastenospermi ya da normospermisi olan 16 erkek hasta eşleriyle birlikte çalışma kapsamına alınmıştır. İnfertil çiftler en az bir

yıllık evli ve biri hariç primer olgulardır. Oligoastenospermik bu olgu bir çocuklu olup beş yıllık infertilite anamnezi vermiştir. Kontrol grubu olarak 18 tane fertil çift araştırma kapsamına alınmıştır. Erkek hastaların tümüne spermioqram yapılmış, mikroskopide aglütine olmuş sperm hücreleri ve enfeksiyon bulguları değerlendirilmiştir.

Serumdan ASA tayini indirekt immünfloresan teknik ile gerçekleştirilmiştir (Antitestiküler Antibody Test System/Scimedx corporation - Araştırma amaçlı üretilmektedir). Testin prensibi ilk kademede hasta serumundaki antisperm antikorlara substratın bağlanmasını içerir. İkinci kademede oluşan bu antijen-antikor (aj/ab) kompleksi floresanla işaretlenmiş anti-human globulin ile reaksiyona girer. Son kademede maymun testisindeki sperm hücrelerine bağlanan floresanla işaretlenmiş aj/ab kompleksleri mikroskop altında saptanır.

Tüm hastaların serum FSH, LH ve testosteron düzeylerine bakılmıştır. Gruplar arasında ASA pozitifliğinin değerlendirilmesinde ki-kare testi kullanılmıştır.

## BULGULAR:

Bu hastaların sperm sayıları 12 ila 45 milyon/ml arasında (ortalama 22 milyon/ml), hareketlilik oranları ise %20 ila %60 arasında değişmektedir (ortalama %35). Üç hastanın semen mikroskopisinde enfeksiyon bulgusu vardır (bir büyük büyütmede 10'dan fazla lökosit). Altı hastanın spermioqramlarında sperm aglütinasyonları izlendi. İnfertil erkeklerin hepsinin hormon profilleri normaldi.

Kontrol grubundaki erkeklerin spermioqramlarında sayı 15 ila 80 milyon/ml (ortalama 43 milyon/ml), hareketlilik ise %40 ile %75 arasındadır. İki erkekle enfeksiyon bulgusu saptamıştır. Bu gruptaki erkeklerin 3 tanesi oligospermiktir (sperm sayısı <20 milyon/ml).

İnfertil gruptaki 16 çiftin 7 tanesinde her iki eşte ASA pozitif bulunmuştur. Altı çiftte ise her iki eşte ASA negatiftir. Çiftlerden 3 tanesinde kadında ASA pozitif iken erkekte negatif bulunmuştur. Bu grupta kadınlar için toplam ASA pozitifliği 10/16(%2.5), erkekler için ise bu oran 7/16(%43.7) dir (Tablo-1).

Fertil grupta 18 çifti 2 tanesinde her iki eşte ASA (+)'tir. Onüç tanesinde ise her iki eşte ASA(-)'tir. İki hastada ASA kadında pozitif iken erkekte negatif,

**Tablo 1.** İnfertil çiftlerde serumda ASA pozitifliği

KADIN	ERKEK	SAYI ve %
+	+	7, %43.7
+	-	3, %18.7
-	-	6, %37.7
TOPLAM		16,%100

**Tablo 2.** Fertil çiftlerde serumda ASA pozitifliği

KADIN	ERKEK	SAYI ve %
+	+	2, %11.1
+	-	2, %11.1
-	+	1, %5.5
-	-	13, %72.2
TOPLAM		18, %100

bir hastada ise erkekte pozitif iken kadında negatif. Bu grupta kadınlar için toplam ASA pozitifliği 4/18(%22.2), erkekler için ise bu oran 3/18(%16.6) dır (Tablo-2).

Semen mikroskopisinde sperm aglütinasyonu izlenen 6 infertil hastadan 3'ünde ASA(+) bulunurken, bu hastaların 4'ünün eşinde ASA(+) bulunmuştur. Her iki grupta infeksiyon bulgusu olan toplam 5 hastanın 3 tanesinde ASA(+) bulunmuştur. Bu hastaların ikisi infertil, biri fertil gruba aittir.

Dolaşımdaki ASA pozitifliği yönünden infertil çiftlerle fertil çiftler arasında anlamlı bir fark vardır ( $p<0.01$ ). Eşler ayrı ayrı değerlendirildiğinde infertil kadınlar arasında anlamlı bir fark bulunurken ( $p<0.05$ ), infertil ve fertil erkekler arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. ( $p>0.05$ ). ASA(+) erkek hastalarla ASA(-) erkek hastalar arasında sperm hareketliliği yönünden anlamlı fark yoktur.

### TARTIŞMA:

ASA'nın neden olduğu infertilite probleminde geçerli görüş, sperm servikal mukusta ya da daha yukarı üreme kanallarındaki hareket kabiliyetinin veya fertilizasyon kapasitesinin bozulmasıdır. ASA'nın, servikal mukusta sperm penetrasyonunu engellediği açık olarak gösterilmiştir. Maghissi ve ark.<sup>11</sup> 172 infertil çiftte kadınların servikal mukuslarında %25, serumlarında ise %13 ASA pozitifliği bulmuşlardır. Bu kadınlarda servikal mukusta ASA varlığı canlı sperm miktarı ile ters orantılı bulunmuştur. Başka bir çalışmada sperm yüzeyinde ASA bulunmayan 66 çiftin %64'ünün spermeleri

servikal mukusta yeterli hareketlilik gösterirken, spermle ilişkili ASA'ya olan 122 çiftin ancak %26'sının spermeleri servikal mukusta yeterli hareketlilik göstermiştir.<sup>12</sup> Bu çalışmada servikal mukustaki sperm hareketliliği ile gebelik arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Başka bir tezde, ejakülasyondan sonra spermle ilişkili IgG'nin, otolog komplemanı aktive edip PMNL'lere bağlanmasına ve sperm inaktivasyonuna neden olduğu ileri sürülmüştür.<sup>13</sup> Benzer olarak kadın genital kanallarında kompleman aktivasyonu yoluyla sperm tahribatı ve canlılığında azalma olabilir. Ancak bazı araştırmacılar sayı ve hareketlilik gibi semen parametreleriyle ASA arasında bir ilişki bulamamışlar ve bu tezi reddetmişlerdir.<sup>14,15</sup> Hekman, semedeki sperm aglütinasyonunun mikroorganizmalardan ya da servikal plazma içeriğindeki non-immun değişimlerden kaynaklandığı fikrini ortaya atmıştır.<sup>16</sup> Biz bu araştırmalardan farklı olarak ASA'yu serumda araştırdık ve sperm hareketliliği ile bir ilişkisini saptamadık.

İmmunohistokimyasal çalışmalar, endoserviks ve fallop tüplerinde subepitelyal dokuda polimerik IgA üreten plazma hücrelerinin varlığını göstermiştir.<sup>17</sup> Gerçekten de sekretuar IgA'nın kaynağı araştırıldığında bunları lokal olarak mukozaya dokuda üretildiği ve genel dolaşımdan genital mukozaya bu derece yüksek düzeylerde geçemeyeceği ortaya konmuştur.<sup>18,19,20</sup> Sonuç olarak sperm-antikör etkileşimi, servikal mukus düzeyinden daha yukarıda olabilir ve sperm hareketliliği ve oosit fertilizasyonunu etkileyebilir.

Kadından olduğu gibi IgA, erkek genital kanallarında da üretilip salgılanır. Çünkü seminal plazma IgA'sının çoğu sekretuar tiptir.<sup>21</sup> Sistemik dolaşımdaki IgA miktarı ise çok azdır. Genel dolaşımda IgM tipi ASA'lar bulunmamasına rağmen genital kanallarda anlamlı düzeylerde saptanamamıştır.<sup>22</sup> IgG ise erkek genital sisteminde genel dolaşımdakinin ancak %1' kadardır.<sup>14</sup>

Kadınlarda serumda ASA varlığının servikal mukusta ASA varlığı ile yakın alakalı olmadığı savunulmuştur.<sup>23</sup> Fertil ve infertil popülasyonda yapılan bir prospektif çalışmada kadın ve erkekteki serum ASA düzeyi ile infertilite arasında pozitif bir ilişki saptanamamıştır.<sup>24</sup> Yine Crister ve arkadaşlarının bir çalışmasında fertil ve infertil çiftler arasında serumdaki ASA pozitifliği %20 ile %30 arasında bulunmuş ve gruplar arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Bu bulgularla serum ASA'la-

rının fertilite üzerine daha az etkili olduğu iddia edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda dolaşımdaki ASA miktarı, fertil ve infertil gruptaki kadın ve erkeklerde anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Fertil ve infertil çiftlerde ASA pozitifliğinin farklı olduğunu gösteren ve bizim çalışmamızı destekleyen çalışmalar da vardı. Farklı erkek ve kadınların serum, sperm ve servikal mukuslarındaki ASA pozitifliğinin yaklaşık %2'den az, infertil erkek ve kadınlarda ise %5 ile %30 arasında olduğu bulunmuştur.<sup>4,25,26</sup> Bizim çalışmamızda fertil ve infertil popülasyonda ASA pozitifliği genel olarak literatür değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bu sonuç indirekt immunfloresan tekniğin yanlış pozitif sonuçlarıyla ilgili olabilir. Bu testin sensitivitesinin çok iyi olmasına rağmen literatürde de yanlış pozitifliğin yüksek olduğu bildirilmiştir.<sup>27,28</sup>

ASA belirlenmesinde immunfloresan tekniğin dışında bir çok teknikler vardır. Bunlardan hassaslık ve özgürlüğün en yüksek olanlardan İmmunbead Binding Teknik ve sperm mixed antiglobulin reaction (MAR) testi seminal ASA belirlenmesinde sık kullanılmaktadır.<sup>29,30,31,32</sup>

## SONUÇ:

İnfertil çiftlerde serum ASA pozitifliği fertil çiftlere anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, dolaşımdaki ASA'lardan fertilitenin olumsuz yönde etkilendiğini düşündürmektedir.

## KAYNAKLAR:

- 1) Haas, G. G., Jr.: This month in investigative urology: antibody-mediated causes of male infertility. *J. Urol.*, 140:626, 1988.
- 2) Alkibay, T., Taşar, C., Remzi, D.: Oligospermik ve normospermik erkeklerde antisperm antikörlerin rolü. *Türk Üroloji Dergisi*, 12: 509, 1986.
- 3) Bronson, R. A., Copper, G.W., Rosenfeld, D.L.: Sperm antibodies: their role in infertility. *Fertil. Steril.*, 42: 171, 1984.
- 4) İnci, O., Aydın, S.: İnfertil çiftlerde antisperm antikör sıklığı ve tedavi sonuçları. *Türk Üroloji Dergisi*, 20:29, 1984.
- 5) Kremer, J., Jager, S.: Sperm-cervical mucus interaction in particular in the presence of antispermatozoal antibodies. *Hum. Reprod.*, 3: 69, 1988.
- 6) Schumacher, G.F.B.: Immunology of spermatozoa and cervical mucus. *Hum. Reprod.*, 3: 289, antispermatozoal antibodies. *Hum. Reprod.*, 3:69, 1988.6. Schumacher, G.F.B.: Immunology of spermatozoa and cervical mucus. *Hum. Reprod.*, 3:289, 1988.
- 7) Rümke, P.: The presence of sperm antibodies in the serum of two patients with oligospermia. *Vox Sang.*, 4:135, 1954.
- 8) Wilson, L.: Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85:652, 1954.

- 9) Rümke, P.H., Hellinga, G.: Autoantibodies against spermatozoa in sterile men. *Am. J. Clin. Pathol.*, 32: 357, 1959.
- 10) Katsh, S.: Infertility in female guinea pigs induced by injection of homologous sperm. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 78: 276, 1959.
- 11) Moghisi, K. S., Sacco, A.G., Borin, K.: Immunologic infertility. I. Cervical mucus antibodies and postcoital test. *Obstet. Gynecol.*, 136. 941, 1980.
- 12) Mathur, S., Williamson, H. O., Baker M.E., Rust, P.F., Holtz, G.L., Fundenberg, H.H.: Sperm motility on post-coital testing correlates with male autoimmunity to sperm. *Fertil. Steril.*, 41: 81, 1984.
- 13) D'Crutz, O.J., Haas, G.G. Jr., Lambert, H.: Evaluation of antisperm complement dependent immune mediators in human ovarian follicular fluid. *J. Immunol.*, 144: 3841, 1990.
- 14) Clarke, G.N., Elliot, P.J., Smaila, C.: Detection of sperm antibodies in semen using the immunobead test: a survey of 813 consecutive patients. *Am. J. reprod. Immunol. Microbiol.*, 7: 118, 1985.
- 15) Haas, G.G.Jr., Schreiber, A.D., Blasco, L.: The incidence of sperm associated immunoglobulin and C3, the third component of complement, in infertile men. *Fertil. Steril.*, 39: 542, 1983.
- 16) Hekman, A., Rümke, P.: Seminal antigens and autoimmunity. In: Hatz ESE, editor. *Human semen and fertility regulation in men*. St. Louis: CV Mosby Co., pp: 245-257, 1957.
- 17) Kutteh, W.H., Hatch, K.D., Blackwell, R.E., Mestecky, J.: Secretory immune system of the female reproductive tract. I. Immunoglobulin and secretory component-containing cells. *Obstet. Gynecol.*, 71: 56, 1988.
- 18) Mestecky, J., McGhee, JR.: Immunoglobulin A (IgA): molecular and cellular interactions involved in IgA biosynthesis and immune response. *Adv. Immunol.*, 40: 153, 1987.
- 19) Kutteh, W.H., Blackwell, R.E., Gore, H., Kutteh, C.C., Carr, B.R., Mestecky, J.: Secretory immune system of the female reproductive tract. II. Local immune system in normal and infected fallopian tube. *Fertil. Steril.*, 54: 51, 1990.
- 20) Mestecky, J.: The common mucosal immune system and current strategies for the induction of immune response in external secretions. *J. Clin. Immunol.*, 7: 265, 1987.
- 21) Uehling, D.T.: Secretory IgA in seminal fluid. *Fertil. Steril.*, 22:746, 1971.
- 22) Menge, A.C.: Clinical immunologic infertility: diagnostic measures, incidence of antisperm antibodies. In: Dhindsa DS, Schumacher GFB, Editors. *Immunologic aspects of infertility and female regulation*. N. Holland, NY: Elsevier, pp: 205, 1980.
- 23) Haas, G.G. Jr.: The inhibitory effect of sperm associated immunoglobulins on cervical mucus penetration. *Fertil. Steril.*, 46: 334, 1986.
- 24) Critser, J.K., Villines, P.M., Coulam, C.B., Critser, E.S.: Evaluation of circulating anti-sperm antibodies in fertile and patient populations. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 21: 137, 1989.
- 25) Kutteh, W.H., McAllister, D., Byrd, W., Mestecky, J.: Anti-sperm antibodies: current knowledge and new horizons. *Mol. Androl.*, 4: 183, 1992.
- 26) Bronson, R.A., Tung, K.S.K.: Human spermatozoa antibodies: detection and clinical significance. In: Rose NR, de Macario ER, editors. *Manual of clinical laboratory immu-*

- nology. 4th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, pp: 775, 1992.
- 27) **Hjort, T., Hansen, K.B.:** Immunofluorescent studies on human spermatozoa. I. The detection of different spermatozoal antibodies and their occurrence in normal and infertile women. *Clin. Exp. Immunol.*, 8: 9, 1971.
- 28) **Tung, K.S.K., Cooke, W.D. Jr., McCarty, T.A., Robitaille, P.:** Human sperm antigens and antisperm antibodies. II. Age-related incidence of antisperm antibodies. *Clin. Exp. Immunol.*, 25: 73, 1976.
- 29) **Friedman, A.J., Juneau-Norcross, M., Sedensky, B.:** Antisperm antibody production following intrauterine insemination. *Hum. Reprod.*, 6: 1125, 1991.
- 30) **Witkin, S.S., Chaundhry, A.:** Relationship between circulating antisperm antibodies in women and autoantibodies on the ejaculated sperm of their partners. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161:900, 1989.
- 31) **Kadıoğlu, T.C., Punar, M., Kadıoğlu, A., Alp, T., Tellağlu, S.:** İmmünolojik infertilite tanısında direkt immüno-bead testi. *Türk Üroloji Dergisi, Kongre Özel Sayısı:* s. 68, 1992.
- 32) **Kadıoğlu, T.C., Usta, M., Ziyilan, O., Özcan, F., Nane, İ., Tellaloğlu, S.:** The effect of instant dilution and centrifugation technique on antibody binding to spermatozoa detected by sperm MAR test. *Türk Üroloji Dergisi, 7. International Urological Symposion özel sayısı:* s.23, 1994.