İNFERTİL HASTALARDA ANTİSPERM ANTİKOR ARAŞTIRILMASI

INVESTIGATION OF ANTISPERM ANTIBODIES IN INFERTILE PATIENTS

ATİKELER, M.K.*, SEMERCİÖZ, A., YALÇIN, O., BİLGİÇ, İ., BAYDİNÇ, C.

ÖZET

1993-1995 yılları arasında 124'ü kadın, 149'u erkek olmak üzere toplam 273 infertil hastadan alınan serum örneklerinde 1/32 titrede İndirekt Floresan Antikor (İFA) tekniği ile antisperm antikor araştırılmıştır. Erkek hastaların %17.1'sinde, kadın hastaların %16.7'sinde antisperm antikor saptanmıştır. İnfertil kadın hastalarla normal kadınlar arasında ve infertil erkek hastalarla normal erkekler arasında istatistiksel farkın anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

ABSTRACT

From 1993 to 1995 serum samples of 273 (124 women and 149 men) infertile patients were tested for antisperm antibodies in 1/32 titer by the Indirect Fluorescence Antibody (IFA) test. In specimens of infertile patients, 17.7% of the males and 16.7% of the females had significant levels of antisperm antibodies compared to fertile individuals ($p<0.05$).

ANAHTAR KELİMELER: İnfertilite, antisperm antikorlar

KEY WORDS: Infertility, antisperm antibodies

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı

GİRİŞ

Evli çiftlerden %10-15 oranında görülen infertiliteden kadın %30, erkek %30 ve her iki eş %30 oranında sorumlu tutulmaktadır. Bu nedenle her iki eşinde birlikte muayene edilmesi ve incelenmesi gereklidir.[1]

Kadın ve erkekde infertiliteye yol açan bir çok faktör vardır. Son yıllarda üzerinde önemle durulmaya başlanan immün kompleksler bunlardan birisidir. Çeşitli etkiler altında kadın ve erkekte spermlere karşı antikor oluştuğu bilinmektedir. İnfertil hastalarda yüksek oranda saptanabilen antisperm antikorlar üremenin çeşitli dönemlerinde ve değişik seviyelerde etkili olabilmektedir. Erkekte ASA'lar dolaşımda, seminal plazmada ve sperm yüzeyinde bulunabilmektedir. Bu ASA'lar IgA, IgG ve IgM sınıfındandır. IgG ve IgM dolaşımda bulunabilmekte, buna karşın IgA özellikle seminal plazmada yer almaktadır. IgA'nın prostat sekresyonundan seminal sıvıya geçtiği ve fertilizasyonu önleyen bir ASA olmadığı belirtilmektedir.[2]

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada 1993-1995 yılları arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji polikliniğine başvuran toplam 273 infertil hastadan (149'u erkek, 124'ü kadın) serum örnekleri alındı. Hastalar, özellikle hormonal veya infektif infertilite nedenleri ekarte edilerek nedeni açıklanamayanlar arasından seçildi. Kontrol grubunu oluşturan 200 serum örneği (100'ü erkek, 100'ü kadın) inertilite problemi olmadığı varsıyalarak evli ve çocuk sahibi normal kişilerden alındı. Serumlar çalışılacağı güne kadar -18°C da saklandı.

Antijen hazırlama: Antijen hazırlamak için kullanılan semen örneği 0 Rh (-) kan grubuna sahip erkekten alındı. Donörümüz bir çocuk sahibi ve eşide ikinci çocuğuna hamileydi. Alınan semen 2000 rpm de santrifüj edilip fosfat buffer solüsyon (PBS) ile üç kez yıkandı. PBS ile her alana 12-15 sperm düşecek şekilde sulandırıldı. Aseton-alkol karışımı ile temizlenmiş lamlar üzerine birer damla damlatıldı. Havada kurutulup metanolle tesbit edildi.

IFA Tekniği:

Hasta serumları ve kontrol serumları 1/32 olacak şekilde PBS ile sulandırıldı. Tesbit edilen antijen üzerine bir damla damlatılıp oda ısısında, nemli ortamda bir saat inkübe edildi. Daha sonra 40-50 dakika PBS ile yıkandı. Antihuman immunglobulin (IgG, A, M, H+L Diagnostic Pasteur) 1/32 oranında sulandırılarak karanlıkta damlatıldı. Yine nemli ortamda 30 dakika bekletildi. Yıkama sonunda preparatlar kurutma kağıdı ile kurutulup, birer damla gliserin damlatılıp lamel kapatılarak Floresan mikroskopta 525 nm'lik filtreler kullanılarak incelendi. Sarı-yeşil floresan verenler pozitif kabul edildi.

BULGULAR

İnfertil kadın hastalardan alınan 124 serum örneğinin 22'sinde (%17.7), 149 erkek hastanın 25'inde (%16.7) ASA pozitif bulunmuştur.

İnfertilite problemi olan 124 kadın hastadan 22'sinde (%17.7) ASA (+) saptanırken, kontrol grubundaki 100 kadından sadece 4 tanesinde (%4) ASA (+) bulunmuştur. İnfertilite problemi olan kadın hastalarla kontrol grubu kadınları arasında ASA bulunması yönünden farkın anlamlı olduğu ki-kare testi ile saptanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. İnfertil kadınlarla kontrol grubu arasında ASA dağılımı.

	ASA (+)	ASA (-)	Toplam
Kontrol grubu	4	96	100
İnfertil kadın	22	102	124
Toplam	26	108	224

($x^2 = 11.57$, df = 1, $p<0.05$)

İnterfil hasta grubundaki 149 erkek hastanın 25'inde (%16.7) ASA (+) saptanırken, kontrol grubundaki tüm erkeklerde ASA (-) bulunmuştur. İnfertil erkek hastalarla, kontrol grubu erkekler arasındaki istatiksel farkın anlamlı olduğu Fisher'in kesin ki-kare testi ile belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. İnfertil erkeklerle kontrol grubu arasında ASA dağılımı.

	ASA (+)	ASA (-)	Toplam
Kontrol grubu	0	100	100
İnfertil erkek	25	124	149
Toplam	25	224	249

($x^2 = 16.83$, df = 1, $p<0.05$)

TARTIŞMA

Spermlere karşı otoimmunite ilk olarak 1899 yılında Landsteiner tarafından tarif edilmiştir. ASA'ların erkek infertilitesinde rol oynayabilece-

ği ise ilk olarak Rumks ve Helling tarafından 1950'de ileri sürülmüştür.[2] Spermlerin antijenik yapısı infertilitede immunolojik rol oynayabileceğini açıkça göstermektedir. Semende bulunan antijen tipleri; oto antijenler (T-membran spermatoksik antijen, hiyaluronidaz, akrozomal proteinaz, nöro minidaz, Nükleer protein antijen, Sperm immobilizan antijen) ve izo antijenlerdir (ABO antijenleri, Histocompatibility). Bu antijenler sperm yüzeyinde değişik bölgelerde bulunabilir. ASA'lar etkili olduğu bölgeye göre;

1- Spermatogenezi etkileyebilir. (aspermatogenez, oligospermatogenez, anormal spermatozoid oluşumu gibi).

2- Semen veya servikal mukusta yer alan immunglobulinler, kadın üreme yollarındaki sperme bağlı antikorlar nedeniyle spermlerin hareketi bozulabilir.

3- Makrofajların işe karışmasıyla spermler erir veya makrofajlar tarafından fagosite edilmeleri kolaylaşır.

4- Sperme bağlı antikorlar, makrofajların Fc reseptörlerine yapışıp gametleri etkileyebilir.

5- Akrozom reaksiyonunu bozar.

6- Spermin ovuma yapışmasını ve bağlanmasını önler.

7- ASA'lar embriyo üzerine etkili olup, implantasyonu bloke edebilir.[1-5]

ASA'ların erkeğe bağlı enfertilitede oynadıkları gerçek rol her ne kadar tam olarak bilinmemekte ise de bu antikorların nasıl oluştuğu hakkında çeşitli çalışmalar yapılmış ve görüşler ileri sürülmüştür. Sperm antijenlerinin immunolojik korunmasını sağlayan kan-testis bariyeri spermatogenez başlamadan önce, ortalama 11 yaş civarında oluşur.[3] Bu kan-testis bariyerinin herhangi bir nedenle bozulması bu antijenlerin immun sisteme ulaşmasına ve antisperm antikorların oluşmasına yol açar. Bu nedenler; vazektomi, testiküler torsiyon, enfeksiyon, prostatit, testiküler travma, kriptorşidizm ve varikosel olarak bildirilmiştir.[6-10]

Kadında immünite gelişim mekanizması da karanlıktır.

Seminal sıvıda yer alan bir veya birden fazla immunosupressif faktör kadının sperme karşı duyarlaşmasını önler. Fakat bilinmeyen nedenlerle ASA meydana gelebilmektedir. Kadın genital yolunda interstisyel veya vasküler aralığa sperm antijenlerinin geçmesi ile lokal ve sistemik izoantikorlar oluşmaktadır. Bunlar lokal veya serumda dolaşan antikorlar şeklinde saptanabilmektedir.

İnfertilitede immünolojik faktörlerin rol oynadığının anlaşılması ile birçok çalışma yapılmıştır.

London ve arkadaşları kadın üreme yollarındaki makrofajların antikora bağlı spermleri fagosite ettiklerini invitro ortamda göstermişlerdir. Bunun da ovuma ulaşabilecek sperm sayısını azaltıp infertiliteye neden olabileceğini bildirmişlerdir.[4]

Jarow ve arkadaşları, kronik nonbakteriyel prostatitli 28 erkek hastanın serumlarında Gelatin aglutinasyon tekniği (GAT) ile ASA araştırmışlardır. Bu hastaların 7'sinde (%25), kontrol grubu olarak alınan 69 normal erkeğin serumlarının ise 5'inde (%7.2) ASA'yı pozitif bulmuşlar ve nonbakteriyel prostatitli hastalarda ASA oluşumunun stimüle edildiğini vurgulamışlardır.[8]

Wollf, 178 infertil erkeğin serumlarında ELİSA yöntemi ile ASA'ları %9.6 oranında saptamış, infertilite problemi olmayan erkeklerde ise ASA oranının %4 olduğunu bildirmiştir.[11]

İnci ve Aydın, 39 oligo ve-veya astenospermik ve eşlerinin serumunda ELİSA yöntemiyle ASA araştırmışlar, erkeklerde %30.7, kadınlarda ise %25.6 ASA (+) bulmuşlar ve eşler arasında yakın oranlarda antikor görülmesine dikkat çekmişlerdir.[12]

Çalışmamızda infertil gruptaki 124 kadının 22'sinde (%17.7), 149 erkeğin 25'inde (%16.7) olmak üzere toplam 47'sinde (%34.4) 1/32 titrede ASA tesbit edilmiştir. Kontrol grubumuzda ise 100 kadının 4'ünde (%4) ASA pozitif saptanırken, 100 normal erkeğin hiçbirisinde ASA saptanamamıştır.

Saptadığımız bu oranlar infertilitede diğer faktörlerin yanında ASA araştırılmasında gerekli olduğunu göstermektedir. Biz bu çalışmamızda ASA'ların infertilitedeki önemini vurgularken tedavi seçeneklerini-sonuçlarını bir başka çalışmada tartışmayı düşündük ve ASA'ların değerlendirilmediği bir infertilite araştırmasının tam olamayacağı kanısına vardık.

KAYNAKLAR

1) **Mandelbaum, S.L, Diamond M.P., Decherney A.H.:** The impact of Antisperm antibodies in human infertility. J.Urol, 138: 1, 1987.

2) **Haas, G.G., Weiss-Wik R., Wolf D.P.:** Identification of antisperm antibodies on sperm of infertile men. Fertil-Steril., 38: 54, 1982.

3) **Jarow J.P., Sanzone J.J.:** Risk factors for male partner antisperm antibodies. J.Urol, 148: 1805-7, 1992.

4) **London S.N., Haney A.F., Weinberg J.B.:** Macrophages and infertility: Enhancement of human macrophage-mediated sperm killing by antisperm antibodies. Fertil-Steril, 43 (2), 274-78, 1985.

5) **Naz R.K., Choudry A., Witkin S.S.:** Lymphocyte proliferative response to fertilization antigen in patients with antisperm antibodies. Am.J. Obstet. Gynecol, 163(2), 610-13,1990.

6) **Sotolongo J.R.:** İmmunological effects of vasectomy. J.Urol. 127: 1063, 1982.

7) **Witkin S.S., Toth A.:** Relationship between genital tract infections, sperm antibodies in seminal fluid, and infertility. Fertil. Steril., 40: 805, 1983.

8) **Jarow J.P., Kirkland J.A., Jr. and Assimos D.G.:** Association of antisperm antibodies with chronic non bacterial prostatitis. Urology, 36: 154, 1990.

9) **Ronald L.U., Douglas T.C., Nancy T.S., Brent W.S., Richard G.M.:** The incidence of antisperm antibodies in infertility patients with a history of cryptotchidism. J.Urol. 151, 381-83, 1994.

10) **Cameron D.F., Snydle F.E.:** The blood-testis barrier in men with varicocele: a lanthanum tracer study. Fertil.Steril. 34: 255, 1980.

11) **Wollf H., Schill B.:** A modified enzyme-linked immunosorbent assay (Elisa) for the dedection of antisperm antibodies. Andrologia, 17: 426-433, 1985.

12) **İnci O., Aydın S.:** İnfertil çiftlerde antisperm antikor sıklığı ve tedavi sonuçları. T.Ü.D. Cilt: 20, Sayı 1, 29-32, 1994.