

2028

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
CERRAHİ BİLİMLERİ BÖLÜMÜ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

İNFERTİL ERKEKLERDE ANTİSPERM
ANTİKORLARIN KİBRİCK TESTİ
İLE GÖSTERİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. KAAAN AYDOS

ANKARA - 1991

İ Ç İ N D E K İ L E R

	Sayfa No. -----
GİRİŞ VE AMAÇ	1-2
GENEL BİLGİLER (İmmünoloji)	3-27
MATERYAL VE METHOD	28-31
BULGULAR	32-38
TARTIŞMA	39-55
SONUÇ	56
ÖZET	57
KAYNAKLAR	58-64

GİRİŞ VE AMAÇ

İnsanoğlu doğası gereği üretkendir. Reprodüktif çağa gelen her çift fizyolojik düzeyde doğumla sonuçlanan birlikteliği arzu eder. Ancak gerek erkek sekse gerekse kadın sekse ait bazı etkenler nedeni ile fertilizasyon mümkün olmaz ve aile düzeninin problem dönemi başlar.

Günümüzde evli çiftlerin yaklaşık %15'i infertilidirler. Bu oran dünya nüfusuna uygulandığında sorunun çok ciddi boyutlarda olduğu ortaya çıkar. Infertilitede erkek seks %40-45 oranında sorumlu durumundadır (53). Bu sorumluluk bazen yetersiz seks eğitimi yada çok basit bir enfeksiyon şeklinde olabildiği gibi, bazende tüm araştırmalarda fertilizasyonu negatif yönde etkileyecek herhangi bir patoloji saptanamaz ve bu durumda fizyolojik fertilizasyon mümkün olamaz. Günümüz koşullarında tıbbi teknolojinin artışına paralel olarak biokimyasal, farmakolojik ve immünolojik öğeleri esas alan üstün düzeydeki çalışma sonuçları fertilizasyon sorununda oldukça yardımcı düzeye ulaşmıştır. Bu bakımdan, gerek tanı ve gerekse tedavide başarılı sonuç alabilmek için infertilitedeki immünolojik etkileşimin aydınlatılmasında zorunluluk vardır.

Son zamanlarda klasik tanı yöntemleri ile kesin tanı konulamayan, nedeni bir kompleks halini alan infertilite olgularında immünolojik faktörlerin rolü ön planda düşünülmektedir. Zira matür sperm hücrelerine karşı oluşan immünglobulinlerin erkek ve kadın genital sisteminde çok yönlü bir etkileşim zinciri

vardır. Bu etkileşim özelliği doğru yöntemlerle tanımlandığı zaman buna uygun tedavi planlaması ile fertilizasyonda başarı oranı oldukça yükselmektedir. Ancak henüz immünolojik negatif etkilerin hem kesin tanısı hemde kesin tedavisi problem olma özelliğini korumaktadır.

Bu amaçla, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na 1987-1990 yılları arasında infertilite yakınması ile başvuran ve spermiogramları normal yada orta derecede bozukluk gösteren bir grup erkek hastada, Makroskopik Jelatin Aglütinasyon Testi'nin kullanılmasıyla, antisperm antikorların varlığı ve kantitatif olarak düzeyleri gösterilerek, bunların klinik yada laboratuvar değişik parametreler ile beraber değerlendirimi yapılmıştır.

GENEL BİLGİLER

İNSANDA İMMÜN SİSTEM

Humoral ve hücresele bağışıklık cevapları ve aşırı duyarlılık reaksiyonları, organizmanın "kendi doku maddeleri"ni "kendisinin olmayan" yabancı maddelerden ayırdedebilme yeteneğine dayanır (22). Bir organizmanın bağışıklık mekanizmaları kendi maddelerine karşı reaksiyon göstermezler, yani immün bir cevap vermezler. Fakat bunlar kendinin olmayan maddelere karşı reaksiyon gösterirler. Fetus hayatında ve yeni doğan döneminde bulunan canlı organizmada "kendi maddelerini" "kendisinin olmayan" maddelerden ayırdedebilme yeteneği henüz olgunlaşmamıştır. Bunun sonucu olarak, fetus dönemindeki bir canlıya bir antijen verilirse, doğumdan sonra aynı antijenin verilmesi halinde antikor cevabı yada aşırı duyarlılık reaksiyonu gibi bir bağışıklık cevabı elde edilmez. Bu antijen, o canlı tarafından kabul (tolere) edilmiştir (22).

Bugün, belirli bazı hastalıkların organizmanın kendi dokularına karşı aşırı duyarlılığı ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bir canlı, fetus hayatındaki ve yeni doğan dönemindeki doku antijenlerini "kendi" antijenleri olarak kabul eder ve bu antijenlere karşı antikor yada aşırı duyarlılık teşekkül etmez. Bu dönemlerde canlıda bulunmayan antijenler ise "kendisinin olmayan" yabancı antijenlerdir. Bunlara karşı canlıda antikorlar yada duyarlılık reaksiyonları meydana gelir (23).

Bazı özel durumlarda organizmanın kendi antijenlerine karşı cevap vermeme özelliğinin kaybolduğu ve kendi antijenlerine karşı antikor yaptığı görülebilir (19,22). Bu durumlar şunlardır :

1 - Bazı doku antijenleri, normal olarak vücutta dolaşımın dışında olup, antikor yapan hücrelerle temas etmezler (gözdeki mercek, sperm, tiroglobulin ve MSS dokuları gibi). Bu dokular ayrı kalmış olmaları dolayısıyla, antijenleri organizma tarafından "kendi" antijenleri olarak tanınmamışlardır. Bu antijenlerin organizmaya dolaşıma girmeleriyle, organa özgü bir antikor cevabı meydana gelir.

2 - Antijen-antikor reaksiyonları çok spesifik olmalarına karşın, birbiriyle ilişkisi bulunmayan bazı antijenler çapraz reaksiyon verebilmektedirler. Vücuda dışarıdan verilen bir antijen tesadüfler sonucu, bazı doku antijenleri ile çapraz reaksiyonlar vermektedir. Örneğin, streptokok antijenleri ile vücutta meydana gelen antikorlar, kalp kası doku antijenleri ile de çapraz reaksiyon verebilmektedirler.

3 - Doğal doku antijenleri, dışarıdan bir hapten grubunun bağlanması ile yeni bir antijen özelliği kazanabilirler. Bu hapten-antijen bileşiğine karşı teşekkül eden antikor, o doğal antijen ile de reaksiyon verir. Örneğin, ilaçların hücre yüzeyine bağlanmaları sonucu, ilaca karşı oluşan antikoron, hücre yüzeyindeki antijen ile birleşmesi ile o hücrenin hasara uğramasında görüldüğü gibi.

4 - Kalıtsal bazı anomalilere bağılı olarak kendi doku antijenlerine karşı antikor teşekkül edebilmektedir. Burada organizma kendi antijenlerine karşı olan normal immünolojik toleransını kaybetmiştir. Örneğin, romatoid artirit vakalarında oluşan IgM molekülü (romatoid faktör) gibi.

Bir kimsenin kendi dokularına karşı immünolojik tolerans göstermesinin genetik olarak belirlenmiş olması muhtemeldir. Yani, bir insanda kendi dokularına karşı duyarlı lenfositler ve antikorlar oluşturabilmek için gerekli olan genlerin yok edilmesi yoluyla tolerans elde edilebilir. Fetusta lenfositlerin gelişme süreçleri içinde bir antijen enjekte edilirse, bunlar lenfoblastlaşırlar, hızla çoğalırlar, sonrada uyarıcı antijen ile birleşerek kendi kendine parçalanırlar. O halde; bir antijene spesifik yapıda lenfosit oluşturacak mekanizma kullanılmış ve yok edilmiş olur. Sonuçta vücut antijenlerine karşı olabilecek klonların ortadan kaldırılması ile, bu antijenlere karşı immünolojik tolerans yerleştirilmiş olur (22,51).

Bilindiği üzere lenfositler başlangıçta embriyoda, kemik iliğinin "lenfositik ana hücrelerinden (lenfositik stem hücreleri)" kaynak alırlar. Daha sonra ileride "duyarlı lenfosit"leri vermesi planlanmış lenfositler timus bezine gider, orada bir süre yetişirler. Timustaki bu ön hazırlık nedeniyle, daha sonra hücrel bağışıklılık alanından sorumlu olacak bu hücrelere "T-Lenfositleri" adı verilir. Lenfositlerin diğer popülasyonu (antikorların yapımına ayrılmış olanlar) muhtemelen karaciğer ve

dalakta, kuşlarda "bursa fabriciosa"da ön yetiştirme dönemini geçirirler. Bu B-Lenfositleri, hümmoral bağışıklıktan sorumludurlar. Lenfositler timus bezinde ve fabriciosa kesesinde (yada onun dengi olan yapılarada) gereken işlemden geçip, geliştirildikten sonra, lenf akımıyla lenfoid dokuya taşınırlar. İşte lenfoid dokuda bu lenfositler bir antijen tarafından uyarıldığında zaman, bu antijene özgü bir "duyarlı lenfosit" yada "antikor" meydana getirilir (17).

Antikorların yapılması :

Yabancı bir antijen vücuda girince, bu antijene spesifik lenfositler derhal büyüyerek lenfoblast, bunların bir kısmıda diferensasyonlarına devam ederek plazmoblastlara ve nihayet plazma hücrelerine dönüşürler. Olgunlaşan bu plazma hücreleri hızla gama globulün, yani antikor (immünoglobulün) yapımına başlarlar. Antikorlar 5 genel sınıfta toplanırlar: IgM, IgG, IgA, IgD ve IgE. IgG tüm antikorların % 75'ini oluşturur (22).

Antikorlar vücadu patojen etkenlerden korumak için üç yolan çalışırlar :

1 - Yayılğan etkene karşı dolaysız saldırı :

- a) Aglütinasyon
- b) Presipitasyon
- c) Nötralizasyon
- d) Lizis

2 - Kompleman sisteminin etkinleştirilmesi:

Kompleman normal olarak plazmada ve diğer vücut sıvılarında bulunan fakat inaktif durumda olan, 9 enzimden oluşmuş bir sistemdir. Antijen-antikor kompleksi oluştuğu zaman, bu kompleks kompleman sistemini aktive ederek sistem çalışmaya başlar. Sonuçta burada :

- a) Lizis
- b) Opsonizasyon ve fagositoz
- c) Kimotaksis
- d) Aglütinasyon
- e) Nötralizasyon
- f) İnflamasyon etkileri , meydana gelir.

3 - Anafilaktik sistemin etkinleştirilmesi :

Antikorlar özellikle IgE, dokularda ve kanda mast hücreleri ve bazofillerin hücre zarına bağlanarak, bir antijen ile temasa geçince bu hücrenin derhal parçalanmasına ve bazı etkili faktörlerin yayılmasına yol açarlar. Bunlar :

- a) Histamin
- b) Anafilaksi maddesi
- c) Kimotaksis yapıcı faktör
- d) Lizozomal enzimler'dir.

Diğer yandan, belirli antijenler ile karşılaşma durumunda, lenfoid dokulardan, antikorların salınmasına paralel olarak, bu antijenlere karşı duyarlılığı olan özel lenfositlerde

çakarılır ve dolaşıma geçerler (Hücresel bağışıklılık). Bu duyarlı lenfositler (T-Lenfositler) kendilerinin oluşmasına yol açan özel antijenle temas edince onunla birleşir ve bir dizi reaksiyonları başlatarak, o organizmayı parçalar. Burada rol alan mekanizmalar :

a) Sitotoksik maddelerin salgılanması (lizozomal enzimler)

b) Transfer faktörün salgılanması: Böylece lenfositin orjinal duyarlılık özellikleri, diğer lenfositlere de aktarılmış olur.

c) Makrofaj kimotaksik faktör salınımı

d) Migrasyon inhibitör faktör salınımı

e) Fagositoz artırıcı faktör salınımı

Bütün bu mekanizmalar vücudu yabancı, antiyentik faktörlerden koruma amacına yöneliktir. Ancak vücutta normal olarak bağışıklık mekanizması kendi öz dokularını tanımaktadır ve kendi dokularını haraplayacak biçimde duyarlı lenfositler veya antikorlar üretmez. Bu fenomene vücudun kendi öz dokularına karşı "immünolojik toleransı" adı verilir. Toleransın kırıldığı durumlarda, vücut dokularında çok miktarda antijenler açığa çıkmakta ve ister duyarlı lenfosit şeklinde (hücresel bağışıklılık), ister antikorlar şeklinde (hümmoral bağışıklılık) olsun, bir takım bağışıklık ürünlerinin yapımına yol açılmaktadır. Bunlarda neticede yukarıda sayılan mekanizmalarla vücudun kendi öz dokularını harap ederler (4,22).

GERMİNAL DOKULARIN İMMÜNOLOJİK ÖZELLİĞİ

İnsanda matür spermatozoa ilk defa pubertede belirlediği için o zamana kadar immün sisteme yabancı kalır. Çünkü vücudun kendini tanıma süreci çok önceden tamamlanmıştır. Bundan sonrada germinal hücreler vücudun bağışıklık sisteminden ayrı tutulurlar. Testiste seminifer tübülüler germinal hücrelerden ve sertoli hücrelerinden meydana gelir. Bazal membrana oturmuş olan sertoli hücreleri, hem kendi aralarında, hem de komşu germ hücreleri ile özel bir takım bağlar yaparlar (23). Sertoli hücreleri arasındaki bağlantılar sayesinde, seminifer epitelyum bazal ve adlüminal olmak üzere iki bölüme ayrılır. Bu şekilde oluşan bağlantılar "kan-testis bariyerini" meydana getirmiş olur. Spermatogonia ve genç spermatositler (diploid hücreler) bazal kompartmanda, yani bu bariyerin dışında kalırken, matür spermatositler ve spermatidler adlüminal bölümde yerleşmişlerdir, yani kan-testis bariyerinin içinde kalırlar. Mayoz bölünmenin profaz fazında genç spermatositler bazal membrandan ayrılıp adlüminal bölüme doğru hareket ederler. Bölünmenin leptoten ve zygoten döneminde bu germ hücreleri, sertoli hücrelerinin aralarında yaptıkları bağlantıların arasında kalarak, üstten ve alttan bu bağlantılarla ayrılırlar (intermedier bölüm). İşte bu bölünmenin sayesinde hücreler kan-testis bariyerini bozmadan ilerleyebilirler (23,78). Bu bariyerin önemi :

1 - Mayoz sırasında germinal hücreleri yıkayan sıvı, bu bölünmenin dışındakilerden daha stabil ve daha farklıdır. Böylece mayoz sırasında dış etkenlerden korunmuş olunur.

2 - Haploid gametler bu sayede immün sistemden ayrılmış olur.

Bir de epididimiste silyalı ve non-silyalı hücreler arasında apikal sıkı bağların bulunduğu, bunların da kan-epididimis bariyerini oluşturduğu bildirilmiştir. Ancak bu kompleksin asıl önemi permeabilite bakımından olup, immünolojik yönden görevi tam ortaya konamamıştır (4).

Spermatozoaların farklılaşma süreci içinde primordial hücrelerden diploid spermatogoniumların, vücudun immün sistemi tarafından tanınan bazı antijenik özelliklerinin bulunup bulunmadığı kesin bilinmemektedir. Bu matür hücre haline geldiğinde spermatozoa artık bir haploid hücre olmuştur ve üzerindeki antijenik özelliklerin % 50 kadarı puberteye kadar bulunmayıp, yeni ortaya çıkmıştır. Yani primordial hücrelerde bu antijenleri bulamayız (23,82).

Yapılan  alışmalar göstermiştir ki, spermin vücuda verilmesi ile erkekte şiddetli bir immün cevap meydana gelmekte ve buda üreme fonksiyonlarını bozmaktadır. O halde bir erkeğin üreme fonksiyonlarının düzenli olarak işleyebilmesi, bu zararlı immün cevabın  nlenmesine, yada bu cevaptan korunulmasına bağlıdır (65).

Burada sperm yüzeyinde bulunan ve immün cevabı uyaran antijenik özellikler nelerdir, tam bilinmemektedir. Örneğin major histokompatibilite (MHC) antijenleri, haploid spermatozoada yoktur. Aynı şekilde, ABO kan grup antijenlerinin de sperm

üzerinde etkileri ispatlanmamıştır. Ancak bir takım antijenik yapıların bulunduğu kesindir (40).

Testisler vücutta çok iyi korunmuş organlardır. Spermatozoal antijenlerin dışarı çıkmasına yada dolaşımdaki immünglobulinlerin veya immünolojik aktif hücrelerin içeri girmelerini önleyecek bir yapıya sahiptir. İşte "kan-testis" bariyeri, gelişen spermatozon-daki antijenleri tübülü dışı ortamdaki ayırmaktadır. Seminifer tubülündeki sperm hücrelerinin immün sistemden ayrı tutulmasını sağlayan 2 mekanizma tanımlanmıştır (23,82).

1) Sperm-antijen Sekestrasyon Teorisi :

Kan-testis bariyeri ile olgun sperm hücrelerindeki antijenik yapıların, vücudun immün sisteminden korunmasıdır. Bu koruyucu yapıyı bozan herhangi bir olay sperm antikorlarının oluşmasına yol açar. Sperm antikor yapımının artmasına sebep olan çok sayıda durum bildirilmiştir:

- Vazektomi
- Genital sistemde obstrüktif süreçler
- İnmemiş testis
- Varikosel
- Testis biyopsisi
- Travma
- Torsiyon
- Kanser
- Homoseksüalite
- Genetik yatkınlık

Yukarıdaki durumların varlığında çoğu zaman dolaşımda antisperm antikorlar tespit edilmektedir. Buda sperm sekestrasyon teorisini destekler. Bu teoriyi destekleyen bir başka gözlem ise;

seminifer t b l ler içinde immünglobülinler, makrofajlar ve diğer tip lökositlerin bulunmamasıdır. Halbuki erkek genital sisteminin diğer bölümleri sperm antijenlerinin dışarı sızmasında, yada immün reaksiyonlara karşı bu kadar sıkı korunmamı tır. Bu korunmanın sınırı muhtemelen rete testistir. Rete testiste, genital traktın diğer bölümlerinden daha az sayıda sperm h creti bulunur, buda bu bölgeden kaynaklanacak potansiyel antijenik stimulusların minimal olacağını gösterir. Ayrıca rete testisin kanlanması zayıf olması da intraluminal ve intravasküler bölmeler arasındaki karşılıklı etkileşimi kısıtlamaktadır. Bu immün korunma mekanizması sperm antijenlerine karşı immün cevabı azaltmaktadır.

2) Imm n Supresyon teorisi :

Sperm antijenlerine karşı immünolojik bir cevabın gelişmesinin  nlendi ini gösteren bir diğer teori de, sınırlı sayıdaki spermatozoal antijenlerin, sabit bir şekilde erkek üreme sisteminden dışarı sızmasıdır. Böyle küçük miktardaki antijenik stimuluslar, supressor T-Lenfositlerini aktive ederler. Bunlarda antijenlere karşı gelişecek immün cevabı baskırlar (22).

Spermatogenez işlemi ve sonuçta spermin transportu tamamen dinamik bir olaydır. Testis içinde sperm geliştikçe, bazı antijenlerde eklenir, yada silinirler. Haploid kromozomal karyotipin bu değişiklikleri yönlendirmesinin genişliği henüz bilinmemektedir. Ayrıca, haploid kromozom taşıyan hücrelerin fenotipik ifadelerini yönlendiren g   de tam ortaya konamamı tır.

Sertoli hücrelerinden tubuli lümenine doğru spermin salınmasında ve intratübüler sperm maturasyonu sırasında bazı spermatozoidal antijenlerin silinmesinin büyük önemi vardır. Epididimis içinde ise spermatozoa motilite özelliğini kazanır. Daha ileri evrelerde kapasitasyona ve akrozom reaksiyonuna hazır hale gelir. Ama hangi epididimal etkenlerin bu değişiklikleri stimüle ettiği bilinmemektedir. Ancak sperm yüzey antijenlerinin eklenmesinin, silinmesinin veya yer değiştirmesinin bunda etkili olabileceği düşünülmektedir (10,22,31,77).

Seminal plazmada bulunan antisperm antikorları yada başka immünglobülinler, esas olarak ejakülatın prostat sekresyonunu içeren ilk kısmında gözlenirler. Ancak bir çalışmada yüksek oranda antisperm antikorları bulunan bazı erkeklerde ejakülatın ilk kısmındaki spermin, ikinci kısmındakine göre daha az miktarda sperm ile ilgili immünglobülinleri taşıdığı bildirilmiştir. Ayrıca vazektomize erkeklerde seminal plazmalarında antisperm antikorları bulunma oranı, vazovazostomi yapılanlardan daha düşüktür. Buda antisperm antikor yapımının vazektomi bölgesinin testis tarafındaki kısmında yapıldığını gösterir. Hatta, vazovazostomi yapılırken vazektomi yapılan yerde testis tarafından alınan sıvıda antikor gösterilmesinin, sonradan fertilitenin sağlanmasında yüksek oranda etkili bir gözlem olduğu da bildirilmiştir. Çalışmalar göstermiştir ki, özellikle vazektomize erkeklerde olmak üzere, antisperm antikor yapılması sırasında, erkekte genital traktın proksimal bölümü immünolojik olarak aktiftir ve kesin bir rol oynamaktadır (23,61,74).

HÜMORAL İMMÜNİTEDE ROL OYNAYAN ANTİKORLAR

İmmünolojik infertiliteden sorumlu antisperm antikorlar genel olarak 4 grupturlar (31,34,60,78):

- 1 - Aglütine edici antikorlar
- 2 - İmmobilize edici antikorlar
- 3 - Sitotoksik antikorlar
- 4 - İmmünfloresan antikorlar

Bu 4 grup antikordan 1, 2 ve 3. antikorlar sperm yüzey antijenlerine karşı oluşurlar. İmmünfloresan antikorlar ise yüzey altı antijenlerine karşı oluşurlar. Aglütene edici antikorlar spermlerin baş-baş, kuyruk-kuyruk, veya karışık biçimde birleşip, kümeler halinde aglütinasyonuna sebep olmaktadır. Bu antijen-antikor reaksiyonu komplemana bağımlı değildir.

İmmobilize edici antikorlar komplemana bağımlıdır ve ortamda kompleman mevcudiyetinde spermlerde hareket kaybına yol açarlar. Olay daha da ilerlediği zaman immobilize spermlerde lizis oluşmaktadır.

Sitotoksik antikorlar da komplemana bağımlıdır. Kompleman varlığında antijen ile reaksiyona girerek, spermatozoanın baş kısmında şişme ve parçalanmaya yol açarlar.

İmmünfloresan antikorlar isimlerini immünfloresan metoddan alırlar. İmmünfloresan metodda, antijen (sperm) immün serumun içerdiği immünglobülinlerle birleşirken, floresan madde ile

işaretli anti-immünglobülinlerin kullanılması ile antijen-antikor reaksiyonu ve bu reaksiyonun sperm üzerindeki lokalizasyonu gösterilebilmektedir. Floresan boyanma özelliklerinin ise genellikle sperm yüzey altı antijenlerini içeren biçimde olduğu bildirilmiştir.

Antisperm antikor saptanan hastaların serum ve seminal plazmalarıyla yapılan çalışmalarda, antikorların başlıca IgG, IgM ve IgA yapısında oldukları saptanmıştır. Serumda başlıca IgG ve IgM yapısında antikorlar bulunmuştur. Nadiren serumda IgA bulunan olgulara rastlanılmıştır. Seminal plazmada ise antikorlar sekretuar IgA yapısındadırlar. Seminal plazmada bulunan az miktardaki IgG prostatik kaynaklı olarak düşünülmektedir. Seminal plazmada IgM yapılı antikora rastlanılmamıştır. Serum IgG; normal erkeklerde seminal plazmaya prostattan transsüstasyonla geçer. Buradaki miktarı serumdakinin % 1'i kadardır. Otoimmünize erkeklerde bununla uyumlu olarak, seminal antisperm antikor düzeyleri IgG için oldukça düşük bulunmaktadır. Serum IgA'sı keza seminal plazmada bulunabilir ve prostattan daha proksimaldan, rete testis ve epididimisten sekrete edilir. Semende kompleman sistemi ile birlikte bu immünglobülinlerin bulunması, erkek genital traktında ve ejakülatta antisperm aktivitelerinin yönetilmesinde gerekli materyali oluştururlar. Ancak şu unutulmamalıdır ki, bu aktiviteler ile immün mekanizmaların arasında bir denge kurulmuştur, ve seminal plazmada birçok immünsüpresiv ve antikompleman faktörlerin varlığı da bilinmektedir. Ayrıca kadın genital trakt

ortamında antisperm antikorları içeren semen ile karşılaşınca, fertilite üzerine böyle antikorların etkiside değişmektedir (76).

Sperm antijenlerine karşı otoimmünite erkek infertilitesinde iki esas mekanizma ile etkili olur (10,12,34,40,50,54):

1 - Antikorların Spermatozoa Üzerine Direkt Etkisi :

Sitotoksik, immobilize edici ve aglütine edici antikorların transportun inhibisyonunda ve fertilizasyon yeteneğinde azalmada rolleri kesin değildir. Diğer bir önemli etkileri ise antikor ile kaplı spermin servikal mukusta penetrasyon yapamamasıdır. Buda kendini laboratuvarında "shaking (çalkalanma)" fenomeni ile belli eder. Sperm dekapasitasyonu veya ovum üzerindeki sperm reseptörlerinin blokajı gibi fizyolojik olayları bozan diğer antijen-antikor reaksiyonları da, otoimmün infertiliteye yol açan ek faktörlerdir.

2 - Oligo ve Azoospermiye Yol Açan Bozulmuş Spermatogenez İle Birlikte Görülmesi:

Bu sellüler immünite ve sitotoksik antikorları ile ilgilidir. Testis, epididim yada yardımcı seks organlarındaki hasara, veya genital trakt obstrüksiyonu sekellerine sekonder ve potansiyel bir problem olarak ortaya çıkar.

Erkeklerde antisperm antikorlarının bulunabileceği 3 yer vardır: Sirkülasyon, seminal plazma ve direk sperm yüzeyi (60). Birçok çalışma göstermiştir ki, sirkülasyon ve sperm yüzeyindeki antikora yönelik antikor testleri sonuçları arasında

uyumsuzluk olmaktadır. Neticede antisperm antikor için serumda test yapmak, spesivite ve/veya sensitivite bakımından, sperm yüzeyinde direk antikor tespitine göre daha yetersiz kalmaktadır. Aynı şekilde, sperm yüzeyine yapışmayan seminal plazma antisperm antikorları da, seminal plazma komponentleri vajenden yukarı çıkmadığı için, daha az klinik öneme sahiptirler. Ayrıca, bu antikorlar üzerinde spermin absorptif etkiside seminal plazma sperm antikorları deneylerinde yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir.

IgM sınıfı antisperm antikorlar sirkulasyonda bulunmakta olup, genital traktta gösterilmemişlerdir. O nedenle, sperme bağlı bu tip immünglobülinlerin test edilmesi önerilmez. Serum IgG miktarının yaklaşık % 1'i genital trakt sekresyonunda bulunur. Seminal plazmada IgG 2 kaynaktan gelir: 1) Sirkülasyondan transsüstasyon, 2) Lokal antikor yapımı. Çoğu durumda IgG sperm yüzeyinde bulunurken, sirkülasyonda saptanamayabilir.

IgA'nın erkek genital traktında lokal olarak yapıldığı gösterilmiştir. Çünkü seminal plazma IgA'sı sekretuvar tip IgA'dır (28,56,78).

ANTİSPERM ANTİKORLARIN ETKİ MEKANİZMALARI

Antisperm antikorların etkileri esas olarak servikal mukus penetrasyonu, ovum penetrasyonu ve embryonun yaşaması üzerindeki çalışmalarla incelenmişlerdir (1,45,77). Zayıf postkoital test genel olarak antikora bağlı bir infertilitenin göstergesi olarak

yorumlanmaktadır. Halbuki zayıf postkoital testlerin büyük kısmı bozuk seminal parametrelerden veya anormal servikal mukus yapımından kaynaklanmaktadır ve antisperm antikorların varlığı ile alakalı değildir. Antisperm antikorlar anormal servikal mukus yapımına yol açmaz, aksine sperm antikorları normal görünümlü servikal mukus boyunca ilerlerken, anormal penetrasyon veya transport işleminde bozulmadan sorumlu olurlar (46,55,75,80).

İmmünpartikül veya radyoizotop işaretli antiglobülin testleri ile sperm yüzeyinde antisperm antikor gösterilen erkeklerde, genelde normal seminal parametrelere ve normal görünümde servikal mukus varlığına rağmen, anormal postkoital test sonuçları alınır. Bunların spermleri servikal mukusu penetre edemezler. Böylece eğer, normal periovulatuvar mukusu olan bir kadında, postkoital test'de hiç sperm görülmüyorsa, kocasında sperm yüzeyinde antisperm antikor var demektir. Ayrıca böyle izah edilmeyen infertilitesi olan yada anormal seminal plazma parametreleri bulunan erkekleri, sperm yüzey antikorları için araştırmak doğru olur (3,56).

Hücre yüzeyinde bulunan immünglobülin molekülleri kendi başlarına hücre harabiyetine yol açmazlar. Antikora bağlı hücre harabiyeti için 2 yol savunulur (23):

1) Hücrenin opsonizasyonu ki burada makrofajlar tarafında fagositoz söz konusudur.

2) Kompleman girişinin aktivasyonu ki burada hücre yüzeyinde açılan poruslar neticesi ozmotik hücre yıkımı etkilidir.

Çalışmalar sperme bağlı immünglobülin ile seminal parametrelerde spesifik değişiklikler arasındaki ilişkiyi tam olarak gösterememiştir. Buna rağmen kortikosteroid immünosüpresif tedavisinin oligo yada astenozoospermik semenleri normozoospermik hale çevirdikleri bildirilmektedir (21,63).

Sperme bağlı immünglobülinlerin kadın genital sisteminde sperm fagositozunu arttırdığı kesin olarak ispatlanmamışsa da, uterusda sperm fagositozu olduğu gösterilmiştir (40).

Antisperm antikor içeren serum ile normal spermi inkübe ettiğimiz zaman, sperm-ovum ilişkisi bozulmaktadır. Immünglobülin bulunan sperm, anormal hamster ova testi ile sonuçlanır. Ancak antisperm antikor bulunan erkeklerde spermlerin intrauterin inseminasyonunun başarısını tahmin etmede hamster-ova testinin geçerliliği tartışılmalıdır. Ayrıca, antisperm antikor bulunan bir erkekte, invitro fertilizasyon sırasında ovumu dölleme şansı ne derecede etkilenmektedir, tam izah edilememiştir. Ama şurası gösterilmiştir ki, sperimde plazma membranının belli yerlerine oturan antikorlar, sperm-ova etkileşimini bozabilirler (10,14,20,47,71,75).

Yapılan çalışmalarda Makrosopik Jelatin Aglütinasyon testi (GAT) ile titresi 32'nin üzerinde pozitif olan infertil erkeklerde spermlerin kendi yada donör eşlerinde servikal mukusu penetre edemedikleri gösterilmiştir, nedeni antisperm antikorlara bağlanmıştır (55,56,78). Sperm ve servikal mukus arasındaki reaksiyonların şekli sperm servikal mukus kontakt testi (SCMC)

ile araştırılmaktadır. Antisperm antikor varsa aglütine olmamış spermelerin seminal plazma içindeki progressif motiliteleri, servikal mukus (CM) içinde çalkalanma (shaking) yada burulma şeklinde hareketlere dönüşür. Bu hareketler progresyon göstermezler. Bunun patogenezinde CM içindeki glikoprotein misellere sperm kuyruğunun yapışmasıdır. Servikal mukusu 56 C'de 30 dk. ısıtmakla bu bulgu kaybolmaz, yani komplemana bağımlı değildir. Genelde spermier IgA ile kaplanmışsa bu olay olur ve buda seminal plasmada antisperm antikor varlığını gösterir. Burada her zaman serum antikorları ile bir paralellik kurulamaz. Bozulmuş sperm penetrasyonu, sıklıkla genital sekresyondaki IgA antikorlarının varlığına bağılıdır. Sperm penetrasyonunun yetersizliği "shaking" hareketi ile uygunluk gösterir ve bunun IgG'den çok IgA'ya bağımlı olduğu gösterilmiştir. Bu şekilde antikor oluşan erkeklerde servikal mukus penetrasyonu bozukluğundan başka, bu antikorlar sperm yüzeyindeki özel reseptörleri bloke ederek, sperm-ovum penetrasyonunu da bozmaktadırlar (28,40,60).

Antisperm antikor içeren erkeklerin yaklaşık 1/3'ünde oligozoospermi vardır. Ancak bunun antisperm antikorlarına bağılı olduğu şüphelidir. İmmün orşitte esas etkilenme yeri epididimisin başı ve rete testisin iç ve dışıdır. Kaput epididimis polimorf nükleer lökositlerin infiltrasyonuna uğrar ve bir tıkaç teşekkül eder. İnterstisyumda ayrıca mononükleer hücre infiltrasyonu da olur, ancak seminifer tübülerin istilasası nadirdir. O halde; rete testis ve epididimis kan-testis bariyerinin en zayıf noktalarıdır. İnfetil erkeklerde antisperm antikor reaksiyonunun hü-

resel bağıışıklılık yönü de vardır ki bu efferent yollarda sperm akımını bloke eder, sonuçta oligozoospermiye yol açar. Keza anti-sperm antikorlar dolaşımda da immünkopleks yaparlar. Diyetle ateroskleroz oluşturulan olgularda ateroskleroz, vazektomize olan maymunlarda daha şiddetli izlenmiştir. Bunun nedeni damar endotelyumunu haraplayan immün kompłeks depolanmasına bağılıdır. Ancak normal diyetlede beslense, vazektomize maymunlarda 9-14 yıl sonra yine ciddi ateroskleroz geliştiğı, vazektomi yapılmayan kontrollü çalışmada gösterilmiştir (28).

ANTİSPERM ANTİKOR TEŞHİSİ

Antisperm antikorları tespit etmek için çok sayıda farklı metod kullanılmıştır. Bunun nedenide bu testlerin immünolojik yönden geçerlilikleri, yorumlanmaları ve standardizasyonları konusundaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (6,14,34,43,55). Ayrıca serumda antikorların tespitinde kullanılan bazı testlerin klinik önemleride tartışmalıdır. Bu nedenle sperme karşı lokal immünite ile ilgili testlerin gelişmesi için çalışmalar yoğunlaşmıştır. WHO tarafından bu metodların çoğunun standardizasyonu ile ilgili problemler çözülmüştür (60,78).

En sık kullanılan testler şunlardır (14,38,40,52,60,72):

1) Tray Aglütinasyon testi (TAT): Seri dilüsyonları yapılmış mikrolitre miktarlarda ajan kullanılır. Peşpeşe gelen iki veya daha fazla dilüsyondaki aglütinasyonlar pozitif sayılır. Semen, servikal mukus ve serumda yapılabilirler.

2) Tüb Slide Aglütinasyon (TSAT): Ajanlar tüpte karıştırılır ve mikroslyad'lara aktarılır. % 10'un üzerinde aglütine olmuş motil sperm görülürse, pozitif olarak yorumlanır. Serum, seminal plazma ve servikal mukusta yapılabilir.

3) Gelatin Aglütinasyon (GAT): Serum veya seminal plazma ile karıştırılmış jelatinde asılı duran motil sperlerin bulunduğu solüsyün, test tüplerinde dilüe edilir. Aglütinasyon makroskopik olarak gözlenebilir. Ancak aglütinasyon tipi ayırdedilemez. Serum ve seminal plazmada yapılabilir.

4) Sperm İmmobilizasyon Testi (SIT): Kompleman varlığında test serumu veya diğer sıvılar mikroslyad veya doku tiplerindirici mikro haznelerde spermlerin immobilizasyonu izlenilir. % 50'nin üzerinde motilitede azalma pozitif olarak kabul edilir.

5) Pasif Hemaglütinasyon Testi: Sperm antijeni ile kaplanmış eritrositlerin, tavşan anti-immünglobülini varlığında, serum veya diğer sıvılar ile karıştırılmasıyla yapılır. Sperm antikorlarının immünglobülin sınıflarında tespit edilebilir. Serum, seminal plazma ve servikal mukusta yapılabilir.

6) İmmünfloresan: Havada kurutulmuş ve fikse edilmiş sperm, serum ve incelenecek sıvılara maruz bırakılır. Buda immünglobülinlere karşı oluşmuş floresan antikorlarla karşılaştırılır. Yüzey altı antijenleri saptanılmasında yararlıdır. Sperm antikorlarının immün sınıfının ayırdedilmesinde de faydalıdır.

Servikal Mukusta Antikorlar :

Sperme karşı izoimmünite, bütün uterus ve fallopian tüpler boyunca hatta overler seviyesinde de oluşabilir (37,58). Çünkü folliküler sıvıda da sperm immobilize edici antikorlar tespit edilmiştir. Fakat en çok etkilenen yer servikstir. Sperm antikorlarının serumda tespit edilmeyen seviyelerinde bile, servikal mukusta gösterilebileceği bildirilmiştir. Bu lokal salgılanan sIgA'dır (40).

Seminal Plazmada Antikorlar:

Serumda yüksek titrelerde bulundukları zaman IgG ve IgA tipi antikorlar seminal plazmada da belirebilirler. Seminal plazmada yüksek titrede bulundukları zaman, bu lokal sIgA sekresyonuna bağlıdır, yani bunun ek katkısı söz konusudur. GAT'ta serum titresi 1/64'ün üzerindeyse, seminal plazmada da IgG'ye bağlı antikorlar görülmeye başlar. Böyle infertillerde serumda GAT titresi 1/64'ü geçtiği zaman semende de spontan sperm antikorları görülür (23).

Seminal plazmada antikorların direk ölçümü bazı problemler yaratır. Lokal sIgA sekrete edildiği zaman, varlıkları SCMC test ile anlaşılabilir. Keza IgG grubu antikorlar erkekte genital trakta transsüde edilebilirler ve ejakülatta esasen sperme yapışık olup her zaman seminal plazmada serbest halde saptanamayabilirler. Bu problem MAR testi ile çözülebilir. Bu test sperm yüzeyine bağlı antikorları saptayabilmektedir. Ayrıca MAR testi,

IgM ve IgA kaplı eritrositleri kullanmakla, uygun anti Ig serumları ile karıştırılarak, yapılabilir (21,38,48).

Ayrıca anti IgG, anti IgM ve anti IgA ile kaplanmış hidrofilik polyakrilamid partiküllerin kullanılması ile de, immünglobüline özgü sperme bağlı antikorların saptanması mümkündür (IBT,immunobead-binding test) (48).

Hücrel İmmünitinin Tetkiki :

Spermatozoaya veya testiküler antijenlere karşı hücrel sistemik immünitinin teşhisi, teknik ve yorumlanma açısından bir takım güçlükler getirmektedir. Buna rağmen erkekte genital sistemin haraplanmasında, hücrel immünitinin de otoimmün cevabın bir parçası olduğu kabul edilmektedir. Halbuki kadında immünolojik infertilitede sperme karşı oluşan hücrel immünitinin spesifik bir olay olduğuna dair ancak zayıf deliller vardır. Hücrel immünitinin teşhisindeki problemler, bu immünitide cevap yollarının ve bunların tanınmasının test edilmesinde kullanılacak pürifiye edilmiş sperm antijenlerinin hazırlanmasındaki tekniklerin geliştirilmesi ile çözümlenebileceği ileri sürülmektedir (36,39,51).

Postkoital Test (PCT):

Bir takım kısıtlamalarına rağmen, iyi bir şekilde yapılan PCT, seminal plazma yada servikal mukustaki antisperm antikorların varlığının gözlenmesinde efektif bir testtir (47,73). PCT ile serumdaki antikorların varlığı açısından ancak zayıf bir ilişki kurulabilmiştir.

S-CMPT (Sperm Servikal Mukus Penetrasyon Testi):

Tüpte veya lamda yapılabilir. PCT'in daha kontrollü bir eşidir. Ama antikor dışı bazı faktörlerden de etkilenebilir. Ayrıca erkek partner/erkek donör ve kadın partner/kadın donör mukusu kullanılarak karşılaştırmalı testler de mümkündür (40).

SCMC (Sperm Servikal Mukus Kontakt Test):

Heriki çiftte de lokal antikor varlığını göstermek için Kremer tarafından geliştirilmiş olan bir testtir (45). Pozitif test, sperm ve/veya servikal mukusta antisperm antikorlarının bulunduğunu gösterir ve lam üzerinde bakıldığı zaman, spermlerin servikal mukus ile karşılaştığında yaptığı karakteristik shaking (çalkalanma) hareketleri ile belirir. Önceleri IgA antikor molekülünün Fc fragmanının yapışkan özelliği ile bunun servikal mukusun glikoprotein moleküllerine yapışması şeklinde meydana geldiği savunulmuştur. Yeni çalışmalar ise "shaking" fenomeninin hem IgA hem de IgG grupları tarafından yapılabileceğini, ancak invivo şartlarda olayın IgA ile geliştiğini, oysa invitro IgG grupları tarafından yapılabileceğini ortaya koymuştur. Ancak invivo şartlarda olayın IgA ile geliştiği, oysa IgG'nin etkisinin laboratuvar şartlarında fazlalaştırıldığı söylenilmektedir. Bunda karşılıklı kontrol testleri de yapılabilir (40).

Yeni Metodlar (6,15,23,40):

Özellikle hücre membranı orijinli sperm antijenlerine karşı oluşmuş antikorların kesin tespiti ve miktarlarının tayininde

spesifik radioimmünasey yöntemlerinin kullanılması konusunda çalışmalar yapılmaktadır. Son yıllarda radioizotoplarla işaretlenmiş metodlar kullanılarak, tüm ejakülat incelenabilmektedir.

Bir metodda, komplemana bağımlı sitotoksik antikorlar tarafından membranın bozulmasını takiben, sperme radioizotop işaretli Actinomycin-D'nin nükleer bağlanması incelenmiştir.

Diğer bir metodda, indirek RIA yöntem kullanılarak, tüm sperm test serumuna maruz bırakılmış ve takiben radioizotop işaretli anti immünglobülinler eklenerek, antikor bağlanması kantitatif olarak hesaplanmıştır. Bu mekanizmayı gözönüne alarak, infertil çiftlerde solid faz indirekt RIA tanımlanmıştır.

Bir diğer hayvan deneyinde ise radyoizotop ile işaretli stafilokoksal protein A, sekonder antikorların yerine geçirilerek RIA yöntemi ile incelenmiştir.

ELISA, enzim bağımlı immünoabsorbent yöntem, sensitif ve pratik bir uygulamadır. Spermin dondurulup eritilmesi ile izole edilen antijenler, mikrohazneler içerisine kaplanılır. Test serumu buraya konularak ikisinin karışması sağlanır. Sonra horseradish peroksidaz ve rabbit-anti human Ig ile muamele edilir. Bir enzim substratın eklenmesini takiben, sonuçlar göz veya kolorimatrik olarak okunur. Ayrıca otomatik optik okuma da mümkündür. Böylece çok sayıda örnek değerlendirilebilir.

Radyoizotoplarla işaretlenmiş yöntemler ve ELISA metodları, bütün sperme veya sperm ekstraktlarına uygulanabilir ve bioassey sistemlerden daha objektif olarak antikor konsantrasyonu tetkikine olanak sağlar. Ayrıca bir üstünlükleri de, çok az miktarda malzeme kullanılması, ama hızlı bir şekilde çok sayıda numune değerlendirilebilmesidir. Ancak günümüzde kullanılan metodların ortak bir problemi de spermin immün cevap ile ilgili antijen-antikor sistemleri hakkında kesin ve daha ayrıntılı bilgiler vermemesidir. Buda bu metodlarda özellikle hücre membranından kaynaklanan pürifiye edilmiş sperm antijenlerinin kullanılması gereğini ortaya koymaktadır (6).

Invitro fertilizasyon yöntemleri ile antisperm antikorlarının biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesi mümkündür. Burada insan spermi ve zonası çıkarılmış hamster ovaları yada insan gameterini kullanarak bazı sistemler denenmektedir (6).

MATERYAL VE METOD

HASTA GRUBU :

1987-1990 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na başvuran 104 oligo veya normozoospermik infertil erkek hasta çalışma grubunu oluşturdu.

Hastaların ayrıntılı anamnezleri ve cinsel hikayeleri alındı. Özellikle genital sistemi ayrıntılı olarak değerlendirecek şekilde rutin fizik muayeneleri yapıldı. Fizik muayene sırasında testislerde birbirlerine göre kıvam ve volüm farklılıkları ile varikozel bulunup bulunmadığı, daha önce tanımlandığı şekilde değerlendirildi (53,82).

Hastaların tümünden birer ay arayla, en az iki kez, 72 saatlik cinsel perhizi takiben spermiogramları yapıldı. Örneklerin hepsi aynı şahıs tarafından değerlendirilerek, hata payı minimuma indirilmeye çalışıldı. % 60'ın üzerinde normal motilite ve % 60'dan fazla normal morfoloji gösteren, 20 milyon/ml'nin üzerinde spermatozoon bulunması, normal spermiogram parametreleri olarak kabul edildi (53).

Tüm hastalarda rektal muayene ile prostat sekresyonları alındı. Gerek spermiogram, gerekse prostat sekresyonları enfeksiyon açısından ayrıca değerlendirildi. Mikroskopik tetkikte her büyüme sahasında 8-10'dan fazla lökosit görülmesi enflamasyon olarak kabul edildi ve mikrobiyolojik inceleme için kültür testlerine tabi tutuldular.

Klinik özelliklerine göre bir kısım hastalar, skrotal ultrasonografi ile tetkik edildiler ve bu sırada testis volümleri ile varikosel varlığı değerlendirildi. 18 ± 4 cm³ arası testis volümü normal olarak kabul edildi (23,53).

KONTROL GRUBU:

Kontrol grubu olarak, eşi son 1 yıl içinde doğum yapmış veya antenatal kontroller için doğum kliniğine başvuran 16 çifttin fertil olduğu kabul edilen kocaları aynı şekilde değerlendirildi.

SPERM AGLÜTİNASYON TESTİ:

Aglütine edici antisperm antikorları saptamak için, "Kibrick'in Makroskopik Jelatin Aglutinasyon Testi" kullanıldı (43,60).

Hasta ve kontrol gruplarından 10 cm³ kan örneği alınarak 1 saat içinde santrifüj edildiler. Ayrılan serum derin dondurucularda -30 C'de saklandı.

Ayrıca 30 hastadan ejakülat örnekleri de alındı ve yine 1 saat içinde santrifüj edilerek, derin dondurucularda saklandılar.

Test İçin Gerekli Malzemeler :

- Donör Spermi: Normal viskozitede, lökosit ve yabancı hücre içermeyen, sperm sayısı en az 70 milyon/ml, %60'ın üzerinde normal motilitesi ve morfolojisi olan taze ejakülat kullanıldı.

- Baker's Buffer Solüsyonu: pH 8.1 olan, glükoz içeren fosfat tamponlanmış serum fizyolojik solüsyonu.

İçeriği : 3.99 g glükoz, 0.46 g Na₂HPO₄.7H₂O, 0.20 g NaCl, 0.01 g KH₂PO₄ , 100 ml solüsyon içinde hazırlanmış.

- % 10 Jelatin Baker's Buffer Solüsyonu: Baker's buffer solüsyonu içinde % 10 konsantrasyonunda jelatin (DIFCO) eritilerek hazırlanmış.

- Kontrol Serum: Daha önce yapılan testler ile antisperm antikor içerdiği gösterilmiş olan serum örnekleri kullanıldı (ELISA ile test edilmiş).

- Test serumu ve ejakulatı

METOD :

Dondurucuda saklanan örnekler 56 C'de 30 dakika tutularak, kompleman inaktive edildi.

Inaktive serum Baker's buffer solüsyonu ile önce 1:4 oranında dilüe edildi.

Taze ejakulat tamamen likefiye olduktan sonra, Baker's buffer ile 40 milyon/ml konsantrasyonunda serum içerecek şekilde karıştırıldı.

Bu dilüe semen 1:1 oranında % 10 jelatin Baker's buffer solüsyonu ile muamele edildi.

Bütün bu işlemleri takiben, 0.2 ml semen-jelatin karışımı ile 0.2 ml dilüe serum, iç çapı 3 mm ve boyu 3 cm olan özel tüpler içinde, yavaşça alt-üst edilerek karıştırıldı. Sonra 37 C' de 2 saat inkübe edildi.

Inkübasyon sonunda tüplerin içinde beyaz floküller halinde aglütinasyon olup olmadığına bakıldı. Eğer aglütinasyon gözlenirse 1/128'e kadar dilüsyonlarla teste devam edildi.

Her test programında, deneyin güvenilirliğini kontrol etmek için, pozitif kontrol serumu ile negatif kontrol olarak serum fizyolojik kullanılarak, test edildiler. Pozitif kontrollerde aglütinasyon olmaması yada negatif kontrollerde aglütinasyon olması durumunda test tekrarlandı.

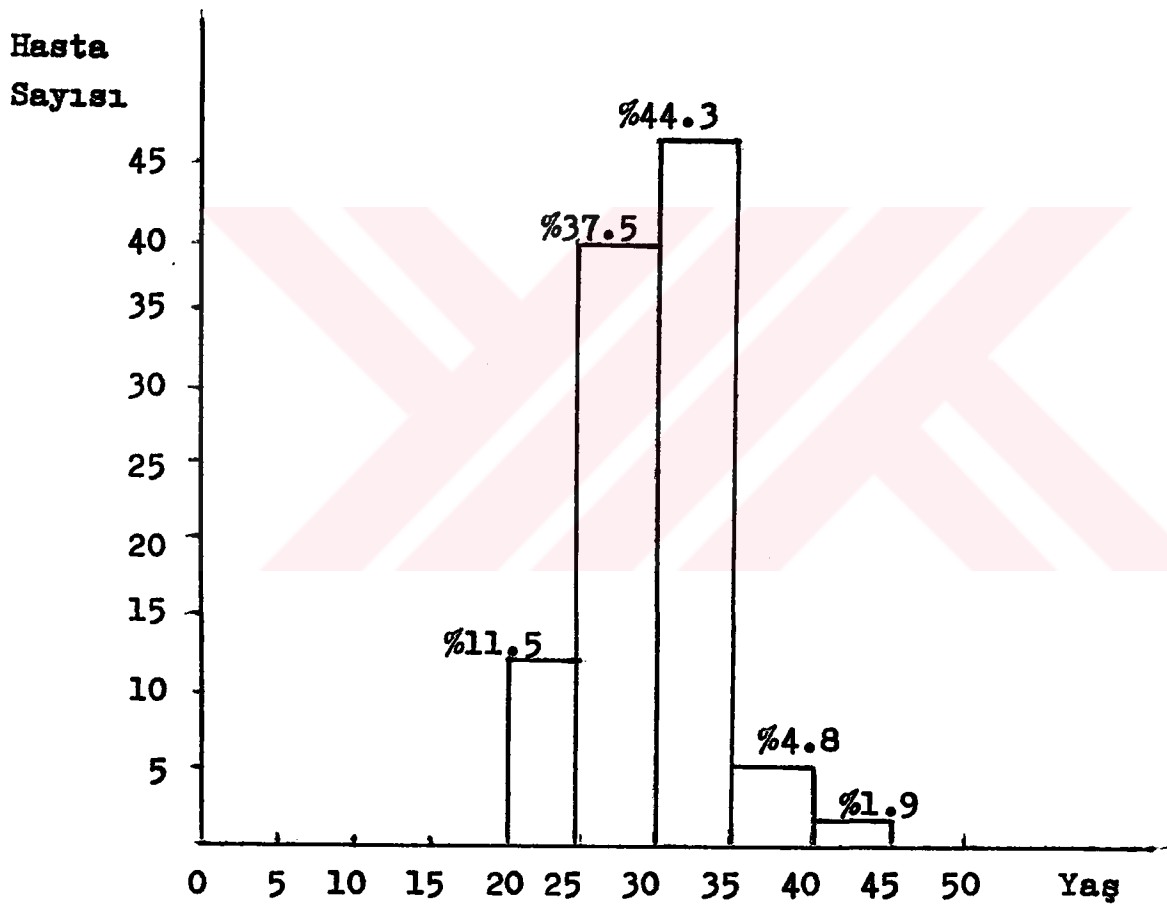
Aynı metod hem serum hem de sperm için kullanıldı.

İSTATİSTİKSEL TESTLER :

Chi-kare testi ve Fisher-Exact testi yapılarak hesaplandı.

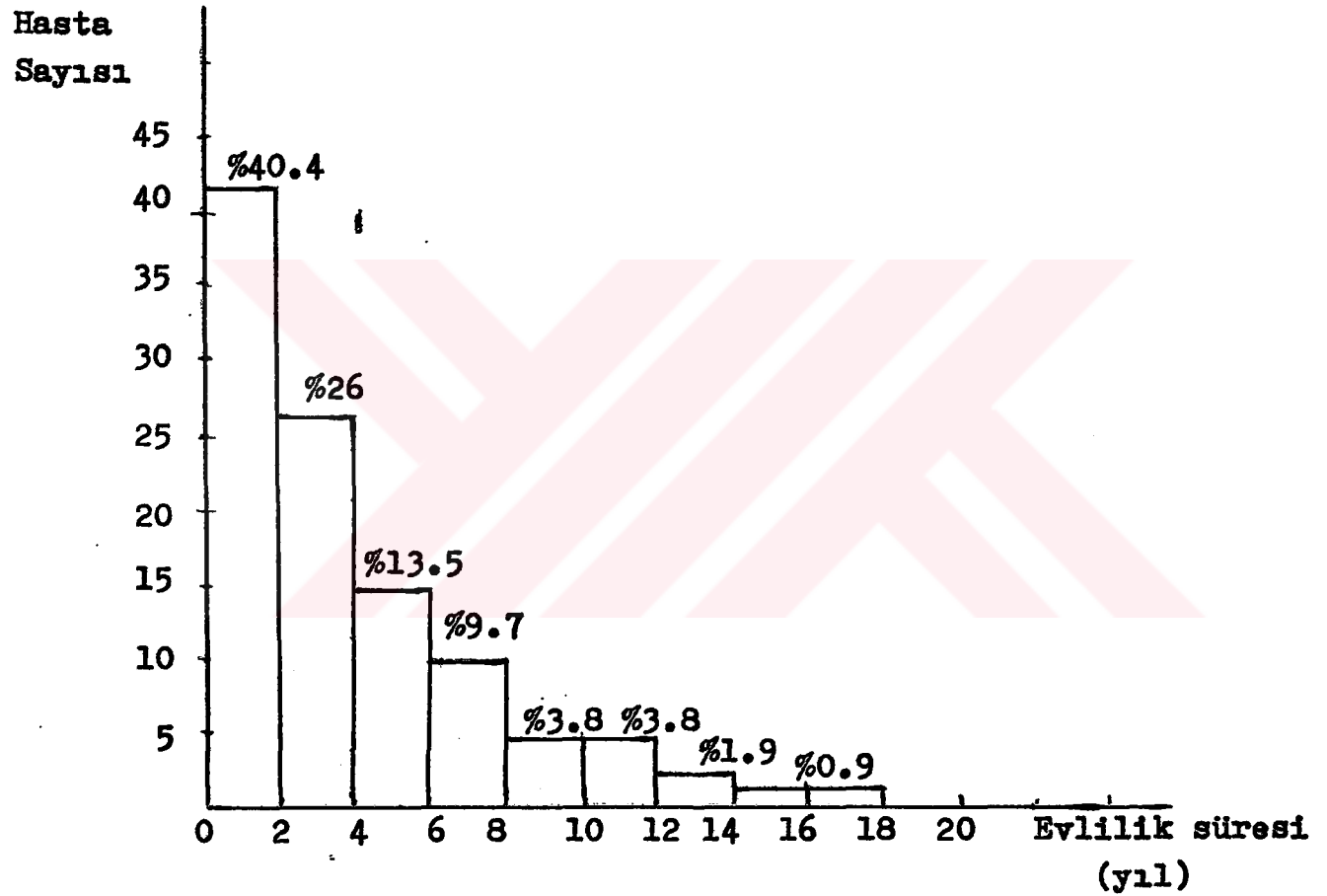
BULGULAR :

Çalışmaya alınan olguların yaşları 23-42 arasında olup, ortalama 30.5 bulunduğu. Yaş gruplarına göre hasta dağılımları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Yaş gruplarına göre 104 infertil olgunun dağılımı.

Olgularda evlilik süreleri 1-10 yıl arasında değişmekteydi (Şekil 2). Bu süre içinde eşler istemelerine rağmen çocuk sahibi olamamışlar ve herhangi bir şekilde gebeliği önleyici metoda başvurmamışlardı.



Şekil 2. 104 infertil olguda evlilik sürelerinin dağılımı.

Çalışmamızda hasta grubunda 23, kontrol grubunda ise 2 olguda serumlarında aglütine edici antisperm antikor saptandı. Her iki grup, titrasyon düzeylerine bakmaksızın değerlendirildiklerinde, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0.05$). Titrasyon ile antikor dilüsyonları artırıldığı zaman yapılan istatistiksel çalışmada ise yine hasta ve kontrol grupları arasında önemli bir fark olmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$) (Tablo 1).

GRUP	Hasta No.	Agg. Yok	POZİTİF AGLÜTİNASYON TİTRESİ				
			1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
İNFERTİL	104	81 %77.8	5 %4.9	4 %3.8	2 %1.9	7 %6.7	5 %4.9
FERTİL (Kontrol)	16	12 %87.5	2 %12.5	-	-	-	-

Tablo 1. İnfertil ve Fertil kontrol grubunda serum antisperm antikor titrelerinin dağılımı.

Serumlarında antisperm antikor bulunan 23 bireyin 3'ünde seminal plazmalarında 1/8, 1/8 ve 1/16 titrelerinde antikor saptanırken, kontrol grubu bireylerinin hiçbirinde seminal plazmalarında aglütüne edici antikor tesbit edilemedi ($p > 0.05$) (Talo 2).

GRUP	Hasta No.	Agg. Yok	POZİTİF AGLÜTİNASYON TİTRESİ				
			1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
İNFERTİL	30	27 %90	-	2 %6.6	1 %3.4	-	-
FERTİL (Kontrol)	16	16	-	-	-	-	-

Tablo 2. İnfertil ve Fertil kontrol grubunda seminal plazma antisperm antikor dağılımı.

Serimizde hastaların anamnezleri, fizik muayeneleri ve laboratuvar tetkikleri neticesi saptanan hastalık tabloları ve bunlarda antisperm antikor titreleri Tablo 3'de verilmiştir.

BULGULAR	HASTA NO	Agg. yok	Pozitif Antikor titresi				
			1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
Üretrit	1	1 % 100	-	-	-	-	-
Kr. Prostatit	11	8 % 73	-	1 % 9	-	1 % 9	1 % 9
Orşit/Epididimit	5	3 % 60	-	-	-	1 % 20	1 % 20
Atrofik/Hipoplazik Testis	7	5 % 71.4	-	1 % 14.2	-	1 % 14.2	-
Sol Varikosel	18	11 % 61.1	1 % 5.5	1 % 5.5	-	-	-
Sol Varikosel operasyonu	7	6 % 85.7	-	-	-	-	1 % 14.3
Bilateral Testis biyopsisi	2	1 % 50	-	-	-	1 % 50	-
Testis Torsiyonu	1	-	-	-	-	1 % 100	-

Tablo 3 : 104 Infertil Olguda Anamnez, Fizik Muayene ve Laboratuvar İncelemeleri Neticesinde Saptanan bulgular ve Antisperm Antikor Titreleri.

İnfertil hasta grubu içinde anamnez, fizik muayene ve laboratuvar incelemeleri sonuçları değerlendirildiğinde saptanan bulgular, antikor pozitif bireyler ve antikor negatif bireylerde istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Neticede küçük volümde (atrofik/hipoplazik) testis ve genital enfeksiyon saptanan hastalarda antikor pozitif ve negatif bireyler arasında farklılığın önemli olduğu gözlenmiştir ($p < 0.001$). Diğer patolojik klinik bulgular bakımından iki grup arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0.001$).

Çalışma grubumuzu oluşturan hastaların standart spermiogramlarının değerlendirimi neticesi, 92 hasta normozoospermik (% 88.4), 12 hasta ise oligozoospermik (% 11.6) bulundu. Normozoospermiklerin 19'unda (% 20.6) ve oligozoospermik olgularında 6'sında (% 50) aglütine edici antisperm antikorlar saptandı. Oligozoospermik olgularda antisperm antikor sıklığı ile normozoospermik bireyler karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0.05$).

Normal motilite gösteren hasta sayımız 69 (% 66.3), motilite bozukluğu bulunan ise 35 (% 33.7) oldu. 72 hastada bozuk morfolojide, 32 hastada da normal morfolojide spermatozoa oranları saptandı.

Olgularımızın tümünde Follikül stimüle edici hormon (FSH), Lüteinize edici hormon (LH), Prolaktin (PRL) ve Testosteron (T) düzeyleri ölçümleri yaptırıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 4'de gösterilmiştir.

	FSH			LH			T			PRL		
DÜZEYİ	N	↘	↗	N	↘	↗	N	↘	↗	N	↘	↗
NORMOZOOSPERMİ	89	3	-	91	1	-	92	-	-	92	-	-
OLIGOZOOSPERMİ	11	-	1	10	1	1	9	3	-	12	-	-

Tablo 4 : 104 İnfertil Hastada Yaptırılan Hormon Tayinlerinin Spermiogram Bulguları İle Karşılaştırılması.

N : Normal sınırlar arasında değer

↗ : Normal sınırın maksimal üst sınırının üzerindeki değer

↘ : Normal sınırın minimal alt sınırının altındaki değer

TARTIŞMA

intertilite nedeniyle tetkik edilen çiftlerin yaklaşık yarısında erkek faktörü söz konusudur (53). Özellikle evliliklerin ilk yılları içinde bu nedenle hekime başvuran hastaların oranı fazla olmaktadır. Genelde kabul edilen görüş çiftlerin ilk 1 yıl içinde istemelerine rağmen çocuk sahibi olamamaları durumunda infertilite nedeniyle araştırılmaya başlanmasıdır. 12 ay içinde herhangi bir kontraseptiv yöntem kullanılmadığı durumlarda çiftlerin % 80'inde gebelik olabilmektedir (53). Bununla uyumlu olarak çalışmamızda olguların % 40.4 gibi büyük kısmını 2 yıl içindeki evlilikler oluşturmaktaydı (Şekil 2).

Diğer yandan, yaş faktörünün de fertilite üzerine değişik mekanizmalarla olan etkisi araştırılmıştır. İleri yaş bireylerde oranizmada özellikle fizyolojik ve morfolojik bakımdan bir takım değişikliklere bağlı olarak bu fonksiyonlarda bozulmalar meydana gelmekte, neticede tedavisi daha da güçlük gösteren infertilite problemi ortaya çıkmaktadır (23).

Yapılan çalışmalarda, testiküler fonksiyonlarda yaşa paralel olarak bozuklukların arttığı ortaya konmuştur (53, 66). Bizim serimizde de 25-35 yaş grubu olguların % 81'ini oluştururken, % 6.7'sini 35 üzeri yaş grubu yapmaktaydı (Şekil 1). Bu da erken yaştaki infertil olgularda tedavi ile düzelme şansının daha fazla olduğunu ortaya koymaktadır.

Fertilitenin en önde gelen göstergesi seminal parametrelerin normal değerlerde olmasıdır. Normal spermiogram değerleri üzerinde farklı sonuçlar bildirilmekle birlikte, yapılan çalışmalarda fertil erkeklerin sperm konstantrasyonunun 20 milyon/ml'den aşağı olabileceği de gösterilmiştir (66). Benzer şekilde sperm motilite ve morfoloji değişiklikleri de bu fonksiyonlarda etkili olmaktadır (66).

Infertil vakalarında önde gelen ve seminal parametrelerde farklı şekillerde etkileşime yol açan bir faktör de reproduktif hormon düzeylerindeki değişikliklerdir. Endokrinolojik nedenler infertilitede % 3 oranında görülmektedir (23). Serimizde ilk değerlendirmede 10 olguda (% 10.1) normal düzeylere nazaran hormonal farklılaşma saptandı. Aynı olguların hormonal analizlerinin tekrarında yanılgılar ortadan kaldırıldığında bu farklılaşmanın 5 6.2 olduğu gözlenmiştir. Bu olgular israren sorgulanmalarına rağmen, daha önce geçirmiş oldukları endokrin tedavisi ile ilgili açık bir öykü vermemişlerdir.

Herne kadar infertilitenin değerlendirilmesinde spermiogram ilk basamak tetkiklerden ise de, seminal parametrelerin normal değerlerde bulunduğu bireyler arasında, infertiliteye değişik oranlarda rastlanılabilmektedir. Burada sorumlu faktörler arasında kadın partner'e ait jinekolojik patolojilerin yanı sıra, immüno- lojik nedenler, enfeksiyon ve koitus alışkanlıkları sayılmaktadır (66). Bizim çalışmamızda 104 infertil bireyin % 88.4'ü 20 milyon/ml'nin üzerinde sperm sayımı gösterirken, % 11.6'sı bundan aşağı konsantrasyona sahip olarak bulundu.

0 halde, yukarıda sayılan faktörler gözönüne alındığında, yapılan tüm rutin klinik ve laboratuvar tetkiklerine rağmen etyolojisi tam olarak aydınlatılamayan infertilite olgularında, yeterli bir tedavinin yapılabilmesi için, daha ayrıntılı ve gelişmiş yöntemlerin kullanılması gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında öncelikle düşünülmesi gereken özellikle son yıllarda üzerinde çalışmaların yoğunlaştığı immünolojik faktörlerin varlığıdır.

İmmünolojik infertilite ile ilgili çalışmalar içinde bulunduğumuz yüzyılın başlarına kadar uzanmaktadır. Spermin spesifik oto ve izo-immünite yapabileceği ilk olarak 1900 yılında Metalnikov tarafından gösterilmiştir. Daha sonra aynı gözlem diğer araştırmacılar tarafından da desteklenmiştir (11,12,29,33, 51,59,60,65,70).

Bunu takiben otolog veya homolog testis veya sperm ekstrelerinin enjeksiyonu ile hayvanlarda eksperimental allerjik orşit (EAO) meydana getirilmiştir. Bunlarda otoimmün testiküler lezyonlar ve azoospermi geliştiği gözlenerek, sonuçta hümorale ve sellüler immünite mekanizmalarının, bunun patogenizde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (17,23,40,51).

Daha sonraları infertil erkeklerde ve kadınlarda antisperm antikorlarının yüksek insidansla bulunabileceği, birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Sonuçta infertil çiftlerde % 15-20 oranında immünolojik faktörlerin bulunabileceği anlaşılmıştır (9,25,82).

İnfertil şahıslarda antisperm antikorlarının varlığını gösteren çok sayıdaki verilere rağmen, bu antikorların sterilitedeki rolleri üzerinde tam bir görüş birliği yoktur. Bunda başta gelen sebep, farklı otörler arasında gerek sağlıklı gerekse hasta kişilerde olsun, antisperm antikorlarının sıklığı ve titreleri üzerinde ayrıcalıkların bulunmasıdır.

Diğer yandan, erkekte sperm hücreleri üzerine fonksiyonel yönden negatif etkileri açıkça gösterilmiş olan antisperm antikor yapımının, kadın genital sistemindeki rolleri ayrıca araştırılmıştır (37,67). Kadın organizmasında spermatozoal antijenlere karşı, reproduksiyonla ilgili olarak spontan immünolojik reaksiyonların olabileceği düşünülürse, henüz ispatlanmış değildir (20,67). Bunlarda sperme karşı immün reaksiyonları harekete geçirecek ya da önliyecek mekanizmalar araştırılmaktadır (41,58).

Günümüzde immünolojik infertilite teşhisinde birçok değişik serolojik test ve bunların modifiye şekilleri kullanılmaktadır. Ancak yukarıda önemi vurgulanan nedenlerden dolayı, bu metodların standardize edilmeleri gereği ortaya çıkmıştır.

1974 yılında WHO tarafından Danimarka'da gerçekleştirilen bir çalışmada, immünolojik infertilite teşhisinde kullanılan testlerin standardizasyonu yapılarak, güvenilirlik sınırları yükseltilmiştir (78).

Daha öncede belirtildiği gibi, antisperm antikorları IgG, IgA ve IgM yapısındadırlar. Seminal plazmada esasen IgG ve IgA

ile C kompleman sistemi bulunur. IgG ve IgA'nın buradaki kon-
3
santrasyonları, albumünde de olduğu gibi, serumdaki değerlerinin
% 1-2'si kadardır. Çok az miktarda sekretuvar IgA'da
mevcuttur. IgG, IgA ve albuminin ejakülat fraksiyonlarındaki
dağılımları asit fosfatazınkiyle aynı, ama früktoz ve spermato-
zoanınkinden farklıdır. Buda IgG, IgA ve albuminin seminal plaz-
maya prostattan girdiğini gösterir (60,62). Çoğu hastada sperm-
agglütininlerin titresi serumda seminal plazmadan daha yüksektir.
Bazı durumlarda bunun aksinin gözlenmesi, spermagglütininlerinin
ayrıca erkek genital sisteminde lokal olarak da yapılabileceğini
ortaya koymaktadır (62).

Bazı olgularda fertil bireylerin serumlarında da sperm
agglütininlerinin bulunabileceği gösterilmiştir. O halde fertil-
lerde bu agglütininler spermatozoaya erişememektedirler. Çünkü
seminal sıvıdaki otoantikorların varlığı, genital sistemdeki
lokal yapımlarına ve kandan buraya diffüzyonlarına bağlıdır.
IgM'nin seminal plazmaya geçmediği kabul edilirse, va ancak bazı
immünolojik infertilite vakalarında IgM sınıfı antikorların
sorumlu olduğu da düşünülürse, serum spermagglütininlerinin değ-
leri tartışılabilir (63).

Erkeklerde immünolojik infertilitede sperme karşı oluşan
immünitenin saptanmasında esasen 2 farklı yol kullanılabilir: 1)
Serumda veya seminal plazmada antikorların aranması 2) Ejakü-
latta sperm membran antijenlerine bağlı antikorların tespit edil-
mesi. Yıllardan beri sadece birinci yaklaşım kullanılmış ve buna

ait çok sayıda aglütinasyon ve immobilizasyon teknikleri geliştirilmiştir (60,71). Daha sonraları sperm yüzeyindeki antikorları aramaya yönelik immünpartikül bağlanması (immunobead-binding IBT) tekniği ve antiglobülin kompleksi (mixed antiglobulin reaction MAR) testleri gibi yöntemler tanımlanarak, yaygın olarak kullanılmaya başlanılmışlardır (21,48,71,79).

İnfertilite olgularında immünolojik faktörlerin aranmasında kullanılan bir diğer yöntem olan Makroskopik Jelatin Aglütinasyon Testi (GAT), spermatozoada aglütinasyon yaparak onların fonksiyonunu bozan antikorların serum yada seminal plazmada tespit edilmesi esasına dayanan bir testdir. İlk olarak Kibrick tarafından tanımlanmıştır (43). Aynı metod günümüzde de kullanılmaktadır (71). Değişik laboratuvarlarda yapılan çok sayıdaki uygulamalar neticesi, izo ve oto-antiserumlarda makroskopik sperm aglütinasyonlarının değerlendirilmesinde GAT yüksek oranda başarılı ve sonuçları birbirleriyle uyumlu olarak bildirilmiştir (60).

Yapılan çalışmalarda MAR ve GAT sonuçları arasında yakın ilişki kurulmuştur. Ayrıca GAT ile immün cevabın şiddeti kantitatif olarak daha güvenilir anlaşılmaktadır. Netice olarak GAT, diğer yeni geliştirilen metodlarla birlikte ve onların bir tamamlayıcısı olarak önerilir (5).

GAT'ın esası seminal plazmada yüzen antisperm antikorların saptanmasıdır. Burada antijen olarak aktif motil spermatozoalar kullanılarak, temas sayısı ve dolayısıyla aglütine olmuş floküllerin hacmi artırılmış olunur. Ayrıca iç çapı en uygun

darlıkta (3mm) yapılmış özel tüpler kullanılarak, hem makroskopik aglütinasyon formasyonu kolaylaştırılmış hem de kullanılan malzeme miktarı minimuma indirilmiştir.

Bu testte bir diğer önemli nokta ise, aglütine flokülle oluştuktan sora, spermatozoaların hareketliliğini azaltarak bu formasyonun bozulmasını önlemek ve testin okunmasında yeni bir resüspansiyon gereğini elimine etmektir. Testte kullanılan % 10'luk jelatin çözeltisi ortamda en uygun viskoziteyi sağlamak-tadır. Bu çözelti spermatozoa için toksik olmayan konsantrasyon-dadır. Aglütine olduktan sonra spermatozoanın motilitesini mümkün olduğu kadar azaltarak, floküllelerin dağılmasını önler. Gerek kontrollerde gerekse yüksek antiserum dilüsyonlarında, küçük aglütinasyon partiküllerinin çökmesini engeller. Dar çaplı ve uzun özel Kibrick tüpleri içinde jelatin, çökme sırasında temas süresini arttırarak da testi daha sensitif hale getirmiş olur (43).

Jelatin aglütinasyon testinde antijen olarak, sayı ve moti-litesi normal taze donör spermi kullanılmaktadır. Her nekad ar spermatozoa üzerinde ABO kan grup antijenleri gösterilmişse de, ABO antikorlarının test sonuçlarını etkilemediği ispatlanmıştır. Aynı şey HLA antijenleri için de söz konusudur (40,60).

GAT erkekte serum ve seminal plazmada yapılabileceği gibi, kadın serumunda da yapılabilir (60). GAT'ın iki kullanım kısıt-laması vardır. Birincisi taze ve normal donör spermi bulmak, ikincisi aglütine olan sperm kısımlarının lokalizasyonlarının ve

sorumlu immünglobülin tespitlerinin yapılamamasıdır. Tüpte oluşan aglütinatların lama taşınması ile aglütinasyon tipinin tayin edilebileceği ileri sürülmüşse, bu işlem sırasında aglütinatların bozulduğu gözlenilerek terk edilmiştir. Bu problemi çözmek için tube-slide aglütinasyon testi yada tray-aglütinasyon testi gibi yöntemler geliştirilmiştir (28,60).

Gerek literatür bilgileri gerekse çalışmamız sonucunda, GAT'nin infertil bireylerde immünolojik komponentin araştırılmasında güvenilirliği ve kesinliği kanıtlanmış bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır.

Ancak antikor dışı bazı serum komponentlerine bağlı olarak spermatozoa aglütinasyonu görülebilmektedir. Bu işlemden bazı mikrop plazma, virüs ve kullanılan malzeme sorumlu olabileceğinden, bu yabancı faktörleri ortadan kaldırmaya yönelik özel bir itina gerektirir. Çalışmamızda GAT kolay bir test olduğu belirlenmiş olsa bile, laboratuvar uygulanmasında yanlışları azaltabilmek için azami dikkat gösterilmiştir. Şüpheli kabul edilen olgularda test tekrarlanmış, laboratuvar eksiklikleri giderildiğinde, literatür bilgilerine uyumlu sonuçlar saptanmıştır.

Çalışmamızda genel olarak serumda aglütine edici antisperm antikorlar 104 infertil erkeğin 23'ünde (%22.1) değişik titrelerde pozitif olarak saptanmıştır. Bunların 5'i 1/4, 4'ü 1/8, 2'si 1/16, 7'si 1/32 ve 5'i 1/64 titrelerinde sonuç verdiler (Tablo 1). Literatürde infertil erkeklerde antisperm antikor görülme sıklığı %4, %6, %15, %17 ve %20 olarak bildirilmiştir

(9,10,24,25,67). Buna karşılık fertil bireylerde antisperm antikor bulunma sıklığı ise %0, %1, %2, %3 ve %5 şeklinde tespit edilmiştir (8,10,24,25,63,67,77). Bizim serimizde fertil 16 bireyden yalnız 2'sinde (%12.5) düşük titrelerde antikor pozitifliği gözlemlendi.

Serumda spermaglütininlerin varlığı ile infertilite arasındaki ilişki gözönüne alındığında, bu antikorların önemi olup olmadığı tartışılmaktadır. Fertiliteyi etkilemesi açısından bu antikorların serum kadar, seminal plazmada da bulunması gerektiği ileri sürülmüştür. serumda yüksek titrede antikor bulunması, ejakülatta da her zaman antikor bulunacağı anlamına gelmez. Örneğin IgM sınıfı antikorlar sirkülasyonda bulunup, seminal plazmaya geçemezler (10). Diğer yandan, IgG ise, sirkülasyondan seminal plazmaya prostattan transsüstasyon yoluyla geçer ve serumdakinin %1'i oranında bulunur. IgA ise ya dolaşımdan diffüzyonla ejakülata gelir, yada semene lokal olarak sekrete edilir. Bu nedenle bazı olgularda seminal plazmada antikor titreleri serumdakine göre daha yüksek bulunmaktadır, ve aynı zamanda seminal plazmada IgA tipi aglütininler tespit edilirken, serumlarında IgG veya IgM tipi immünoglobülinler saptanmaktadır (10).

Bizim serimizde serumda aglütinasyon saptanan 23 bireyden, 64 titrede aglütinasyon gözlenenlerin birinde seminal plazmada 16 titrede, diğerinde ise 8 titrede spermaglütinasyonu gözlenmiştir. Serumda 32 titrede pozitiflik bulunan üçüncü vakada ise seminal plazmada aglütinasyon titresi 8 olarak saptandı (Tablo 1,2).

Yapılan bir çalışmada 133 infertil erkekte serum ve seminal plazmalarında antisperm antikorlar aranmış, serumlarında 4,8 ve 16 titrelerinde antikor pozitifliği tespit edilen 23 olgunun sadece 3'ünde seminal plazmalarında antikor saptanabilmiştir (63). O halde serumda küçük aglütinasyon titrelerinin klinikte öneminin az olacağı ileri sürülmüştür. Başka bir çalışmada ise, 416 fertil çiftten 4'ünde serum antisperm antikorları bulunabildi ve hepsinde de titre 16'dan azdı (64). Sonuçta serum antikor titresinin ancak 32 veya daha yüksek olması halinde infertilite bakımından bir sorun yaratabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Husted bir çalışmasında seminal plazmada antikor bulunan vakalarda serumlarında daha yüksek titrelerde antikor pozitifliğine dikkat çekmiştir (35). Aynı çalışmada seminal plazmada antikor titresinin sadece 64'ün üzerinde bulunduğu hallerde, mikroskopide de spontan aglütinasyon görülebileceği kaydedilmiştir. Seminal plazmada bu titrenin üzerindeki vakalar, serumda antikor titresinin 64'ün üzerinde bulunduğu olguların 2/3'ünü oluşturmaktadır.

Meinertz ise, infertil bireylerde serumda antisperm antikorunun bulunma oranını %17.7 olarak bildirmekte ve bunun ancak %8'inin titresinin 64'den fazla olduğunu vurgulamaktadır (54). Seminal plazmada antikor görülme sıklığını ise %5.6 olarak bildirmiştir.

Sonuç olarak, serumda titrenin 32 ve üzerinde olduğu ve/veya seminal plazmada antikor tespit edildiği vakalar immünolojik infertilite etyolojisi açısından anlamlı bulunmalıdır. Buna göre serimizde, serumlarında 32 titrenin üzerinde antikor bulunan 17

vaka (%16.3), seminal plazmalarında antikor saptanan ise 3 vaka oldu. O halde, bu şekilde değerlendirilen 3 vakanın immünolojik infertilite açısından anlamlı olması gerektiği kanısına varıldı.

Çalışmamıza alınan olgular sperm sayısı bakımından oligo yada normozoospermi vakaları olup, azoospermi vakaları hariç tutuldu. Azoospermik hastalarda çoğunlukla primer testiküler patolojiler yada konjenital veya edinsel duktal obstrüksiyonlar söz konusudur. Bu hastalarda immünolojik infertilite primer olaya eklense bile, teorik olarak infertilitenin gerçek sebebi değildirler.

Yapılan çalışmalarda azoospermi vakalarında antikor düzeylerinin, altta yatan nedene bağlı olarak arttığı bildirilmektedir (2,4,8,13,24,26,30,61,63,65,74)

Serimizde vakaların çoğunu normozoospermik hastalar oluşturmuştur (%88.4). Geri kalanları oligozoospermikti. Normozoospermik 92 olguda serum antisperm antikorları 19 vakada (%20.6), 12 oligozoospermik olgunun ise 6'sında (% 50) pozitif bulundu. Her iki grup arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Bununla birlikte literatürde antisperm antikor tespit edilen normo hatta oligozoospermik hastalarda fertilitate görülebileceği bildirilmektedir (63). Rümke'nin bir çalışmasında serumlarında antisperm antikor bulunan 254 infertil hasta arasında, %14 oranında, tedaviyi takiben, fertilitate şansı bulunduğu gösteril-

miştir. Bu oran oligozoospermiklerde %12,5, normozoospermik olanlarda ise %21.8 olmuştur (63).

Antisperm antikor taşıyan erkeklerin yaklaşık 1/3'ünde oligozoospermi olduğu bildirilmiş, ancak bunun antisperm antikorlarına bağlı olduğu kesin olarak belirtilmemiştir. Bu, antijen-antikor reaksiyonunun hücrel immünite olayına bağlanmaktadır. Neticede, efferent genital yolda sperm akımında parsiyel bir blokajın gelişeceği, bunda oligozoospermi yaparak infertiliteye katkıda bulunacağı ileri sürülmüştür (28). Bununla birlikte antikorların hücre harabiyeti, dolayısıyla seminal parametrelerde bozukluk yapmaları kompleks bir çok fizyopatolojik mekanizma ile de izah edilmeye çalışılmıştır (23,40,49).

Bu gözlemler göstermektedirki, erkekte özellikle obstrüktif patolojilere bağlı azoospermi vakalarında antisperm antikorlar mevcut olabilmektedir. Ancak oligo ve normozoospermi durumlarında bu antikorların infertilitedeki rolleri kesin olarak ortaya konmamıştır.

Erişkin erkek popülasyonunda % 10-15, infertilite nedeniyle tetkik edilenler arasında ise % 21-41 oranında rastlanılan (53) varikosel, bizim serimizde 104 infertil olgunun 18'inde (% 17.3) tespit edildi. İmmünolojik yönden araştırmalarında yapılan Kibrick testi ile bunların 2'sinde (% 11.1) 1/4 ve 1/8 titrede antisperm antikor saptandı. Ancak antikor negatif bireylerle karşılaştırıldığında, iki grup arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark bulunamadı ($p > 0.05$). Bazı araştırmacılar

varikosel varlığında antisperm antikor meydana gelebileceğini ileri sürmüşlerdir. Değişik çalışmalarda tek taraflı varikosel olgularında % 25-67 oranında antisperm antikor bulunduğu bildirilmiştir (15,32,42,57).

Hacim değerlendirmesi yapıldığında, normal hacimden küçük olarak saptanan testisler geçirilmiş enfeksiyon ve travma tarif edenlerde atrofi, tarif etmeyenlerde ise hipoplazi olarak yorumlandı ve genel olarak küçük hacimli testis şeklinde adlandırıldı. Çalışmamızda bu şekilde küçük hacimli testis tesit ettiğimiz 7 olgunun 2'sinde (% 28.5) serumlarında değişik titrelerde antisperm antikor bulundu. Sonuçlar antikor bulunmayan hastalar ile karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0.001$). Bu durumda antikor yükselmesi, testislerde doku bütünlüğünü bozarak sperm hücrelerinin antijenik yapılarının vücudun immün sistemi ile karşılaşmasına yol açan primer patolojilere bağlı olabilir. Testiküler travma yada enfeksiyon gibi etkenlerin bu şekilde immünolojik reaksiyonlara neden olabileceği değişik çalışmalarda ortaya konmuştur (23,42,53,66).

Çalışmamızda kronik prostatit, geçirilmiş üretrit, epididimit yada orşit gibi genital enfeksiyon bulguları saptanan 17 olguda toplam 5 vakada (%29.4) değişik titrelerde serumda ve ikisinde ise aynı zamanda seminal plazmalarında antisperm antikor saptandı. Sonuçlar antikor negatif olgularla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Bunlardan 2'si

daha önce kabakulak geçirmiş olgular olup, serumda antikor titreleri 0 ve 1/64 şeklinde tespit edildi. 1/64 titrede pozitif sonuç veren vaka 19 yaşındayken kabakulak ve bu sırada orşit tanımlamaktaydı. Diğer vakada ise arşit hikayesi kesin tanımlanmadı.

Geçirilmiş genital sistem enfeksiyonu öyküsü veren erkeklerde serum antisperm antikor insidansının fazla olduğu, birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (16,42,81). Bir çalışmada kabakulak orşiti ile aglütine yada immobilize edici sperm antikorları arasında da pozitif bir ilişki kurulmuştur (23).

Vakalarımız arsında prostat sekresyonu mikroskopik muayenesi ve kültür çalışmaları ile kronik prostatit tanısı konan 11 olgunun 3'ünde (%27.2) 1/8, 1/32 ve 1/64 titrelerinde antisperm antikor tespit edildi. Bir vakada aynı zamanda seminal plazmada da sperm aglütine edici antikor mevcuttu. Kronik prostatit vakalarında primer olarak prostatik antijenlere karşı immünisasyon gelişeceği yada spermatozooya karşı da bir immünizasyonun sözkonusu olabileceği ileri sürülmektedir (18). Bir diğer açıklama ise, duktal epiteldeki staz ve yaralama neticesi, spermatozoanın absorpsiyonu yada ekstrasvazasyonu ile immünizasyonun uyarılmasıdır. Bununla uyumlu olarak, kronik prostatit vakalarında serumlarında antisperm antikor tespit edilen olgularda uygun antibiyotik tedavisini takiben, serum antikor titrelerinde düşme, servikal mukus penetrasyon gücünde artma ve gebelik sıklığında yükselme olduğu bildirilmiştir. Benzer çalışmalarda bakteriyel prostatit vakalarında serum ve porstat sekresyonlarında

önemli miktarda antijene spesifik antikor cevabı geliştiği de gösterilmiştir (68,69).

Serimizde bakteriyal kronik prostatit saptadığımız 11 olgu uygun antibiyotik tedavisi programına alınmasına karşın, hastaların tümünün sürekli kontrollere gelmemesi sonucu antikor titre-
sindeki düşmenin istatistiksel anlamlı bir değeri belirtileme-
miştir. Oysa, rutin tedavi programları tamamlanmış olsalardı, literatürde belirtildiği gibi anlamlı antikor titrajındaki düşme gözlenebilecekti.

Çalışmamızda en az 6 ay önce testis biyopsisi yapılmış 2 vakadan birinde 1/32 titresinde serumda antikor bulunurken, diğ-
rinde antikor tespit edilemedi. Testis biyopsisi sırasında kan-
testis bariyerinin koruyucu mekanizmasının bozulması sonucu, sperme karşı antikor oluşumunun uyarılabileceği bildirilmektedir (23). Bir çalışmada testis biyopsisi yapılan 35 erkekten 17'sinde düşük titrelerde antisperm antikor geliştiği Kibrick testi ile gösterilmiştir (32). Ancak bir başka çalışmada ise, testiküler biyopsiyi takiben 9 hastanın hiç birisinde ne aglütine edici nede immobilize edici sperm antikorları tespit edilemediği bildirilmektedir (7).

Vakalarımız arasında 27 yaşında testis torsiyonu geçiren bir infertil hastada serumda 1/32 titrede pozitiflik veren antisperm antikor saptandı. Ancak burada infertilite nedeni, antisperm antikorlar olabileceği gibi, seminal parametrelerdeki bozukluğa da

bağlı olabilir. Genital travmaların antisperma antikor gelişimi üzerine etkileri tartışmalıdır (19,23,27). Testis torsiyonu genital sistemde bir travma meydana getirerek etki gösterir. Postpubertal dönemde eğer hasara uğrayan testis torsiyon sırasında çıkarılmazsa, muhtemelen spermatozoal antijenlere karşı gelişecek immün cevabın, diğer testiste de kalıcı hasar yapabileceği bildirilmektedir (44).

Prepubertal torsiyon vakalarında ise, fertilitede asıl etkili olan matür spermatozoalarda bulunan antijenik yapıların henüz ortaya çıkmamış olması nedeniyle, immün cevabın gelişemeyeceği, dolayısıyla testislerdeki hasarın iskemiya bağlı olabileceği düşünülmektedir (27).

Serimizde 7 hastaya daha önce varikozel nedeniyle tek taraflı vena spermatika interna yüksek ligasyonu yapılmış olup, yalnız 1'inde 1/64 titrede antikor pozitifliği saptanmıştır. Burada operasyon sırasında duktus deferensteki travmaya bağlı ödem neticesi spermatozoaların dışarı sızması ve bunlara karşı bir immün cevabın oluşması mümkündür. Literatürde genital travmalara bağlı olarak antikor oluşabileceği gösterilmiştir (23,26).

İmmün sistemi etkileyen faktörlerin multiparametrik olması nedeniyle, bu etkileşim sonucu ortaya çıkacak negatif sonuçların şüphesiz farklı değerlerde olması beklenmelidir. Infertilitede erkek sekste fertilizasyonu etkileyen immünolojik nedenlerin doğruya yakın belirlenebildiği oranda, tedaviden de pozitif yanıt alma oranı o nisbette yüksek olacaktır.

Sonuç olarak, etyolojik araştırması güç olan oligo ve normozoospermik olgularda immünolojik faktörlerin yeri hale tartışmalı ve kompleks niteliktedir. Bununla beraber, çalışmamızda Makroskopik Jelatin Aglütinasyon Testi (Kibrick Testi) immünolojik etkileşimi belirlemede uygun laboratuvar şartları sağlandığı takdirde güvenilir ve kolayca tekrarlanabilir bir yöntem olarak belirlenmiştir.



S O N U Ç

- Değişik nedenlere bağlı olarak gelişen infertilite olguları içerisinde oligo ve normozoospermik grupta immünolojik etkileşim gelişmiş yöntemlerle değerlendirime tabi tutuldu. İmmün parametrelerdeki düzeylerin farklı metotlarda değişik sonuçlar ortaya koyması nedeniyle, yanılığa en az neden olabilecek yöntem esas alınarak, aglütine edici antisperm antikorların saptanmasında Kibrick'in Makroskopik Jelatin Aglütinasyon Testi uygulanmıştır.

- Normon ve oligozoospermik infertil bireylerde serum ve seminal plazmalarında, fertil kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir farkın bulunmadığı, aglütine edici antisperm antikorlar saptanmıştır.

- Serum antisperm antikor pozitifliği titreleri yükseldikçe, seminal plazmada da aglütine edici antikor görülme sıklığı artmaktadır.

- Genital sisteme ait geçirilmiş yada mevcut enfleksiyon tespit edilen olgularda, serumda antisperm antikor pozitifliği bulunma sıklığında anlamlı ölçüde artmaktadır.

- Sonuç olarak bu çalışmada oligo ve normozoospermik infertil olguların rutin klinik ve laboratuvar bulguları ile analizleri yetersiz olabileceğinden, tanı ve tedavi planlamasında en az yanılığa neden olabilecek ileri teknolojik parametrelerin bu olgu grubunda uygulanmasında kesin zorunluluk olduğu ortaya çıkmıştır.

Ö Z E T

1987-1990 yılları arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na infertilite yakınması ile başvuran 104 oligo ve normozoospermik olgu ile 16 fertil erkek, Kibrikck'in Makroskopik Jelatin Aglütinasyon testi kullanılarak immünolojik bakımdan değerlendirime tabi tutuldu.

Çalışmamızda kullanılan immünolojik testin, infertilite fizyopatolojisinin araştırılmasında ve nedeni kesin olarak açıklanamayan infertilite olgularında tanıda güvenilir ve kolay uygulanabilir bir yöntem olduğu görüldü. Bununla, infertil bireylerde antisperm antikor pozitifliği sıklığı % 22.1 bulunurken, fertil kontrol grubunda bu oran % 12.5 oldu, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$). Infertil olgular arasında klinik ve laboratuvar olarak tespit edilen patolojik bulgular antikor varlığı bakımından değerlendirildiğinde ise, enfeksiyon ile anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Nonselektif bir seçimde 30 olguluk seride yapılan seminal plazma antikor titrajında, % 10 olguda serum antikor titrajı yüksek olanların seminal plazmalarında da antisperm antikorlarının varlığı gösterildi.

K A Y N A K L A R

- 1 - Adeghe, A.J.H.: Effect of Washing on Sperm Surface Autoantibodies. Br.J.Urol., 60, 360-63, 1987
- 2 - Alexander, N., Anderson, D.: Vasectomy: Consequences of Autoimmunity to Sperm Antigens. Fertil.Steril., 32 (3) 253-60, 1979
- 3 - Almedia, M., Feneux, D., Rigaud, C., Jounnet, P.: Steroid therapy for Male Infertility Associated with Antisperm Antibodies. Int.J.Androl., 8, 111-17, 1985
- 4 - Amelar, R.D., Dubin, L., Schuenfeld, C.: Circulating Sperm-agglutinating Antibodies in a 200 men with Congenital Bilateral Absence of the was Deferentia. Fertil. Steril., 20, 228-32, 1975.
- 5 - Andrada, J.A. Von der Walde, F., Hoschoian, J.C.: Immunological Studies in Patients with Mumps Orchitis. Andrologia, 9, 207-11, 1977
- 6 - Anne Hill, L. Hampton, J.K.: Detection of Spermatozoal Antibodies by Daricoassay: A Comparative Evaluation. Fertil. Steril., 33 (3) 302-10, 1980
- 7 - Ansbacher, R.G.: Testicular biopsy: Sperm Antibodies, Fertil. Steril., 26, 1239-43, 1975
- 8 - Ansbacher, R.: Vasectomy: Sperm Antibodies. Fertil. Steril., 24 (10) 788-92, 1973
- 9 - Ansbacher, R., Keung-Yeung, K., Jan Behrman, S.: Clinical Significance of Sperm Antibodies in Intertile Couples. Fertil. Steril., 24 (4) 305-308, 1973
- 10 - Beer, A.E., Neaves, W.B.: Antigenic Status of Semen from the Viewpoints of the Female and Male. Fertil. Steril., 29 (1) 3-21, 1978
- 11 - Bell, E.: Immunological Control of Fertility in the Mouse: A Comparison of Systemic and Intravaginal Immunization, J. Reprod.Fert., 18, 183-92, 1969
- 12 - Boettcher, B., Hay, J., Kay, D.J., Baldo, B.A., Roberts, T.: Spermagglutinating Activity in Some Human Seram. Int. J. Fert., 15 (3) 143-58, 1970
- 13 - Brannen, G.E., Kwart, A.M., Coffey, D.S.: Immunologic Implications of Vasectomy: Cell-Mediated Immunity, Fertil. Steril., 25 (6) 508-14, 1974

- 14 - Chen, C., Jones, W.R.: Application of a Sperm Micro-immobilization test to Cervical Mucus in the Investigation of Immunologic Infertility. Fertil. Steril., 35 (5) 542-5, 1981
- 15 - Columb, J., Vardinon, N., Hommonai, Z.T., et al: Demonstration of Antispermatozoal Antibodies in Varicocele related infertility with an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Fertil. Steril., 45, 397-401, 1986
- 16 - Davis, C., Cohen, M.S., Anderson, M.D., Reinartz, J.A., Warren, M.M.: Total and Specific Immunoglobulin Response to Acute and Chronic Urinary Tract Infections in a Rat Model. J. Urol., 138, 1308-17, 1987
- 17 - El-Alfi, O.S., Bassili, F.: Immunological Aspermatogenesis in Man. Blastoid transformation of lymphocytes in response to seminal antigen in cases of non-obstructive azoospermia. J. Reprod. Fertil., 21, 23-8. 1970
- 18 - Fjallbrant, B., Nilsson, S.: Decrease of Sperm Antibody Titer in Males, and Conception after Treatment of Chronic Prostatitis. Int. J. Fertil., 22, 255-56, 1977
- 19 - Frasier, I., Slater, N., Tate, C., et al: Testicular Torsion does not cause autoimmunization in man. Br. J. Surg., 72, 237-41, 1985
- 20 - Friberg, J.: Postcoital Testing in Relation to Circulating Sperm-agglutinating antibodies in women. Am. J. Obstet. Gynecol. 1, 587-91, 1981.
- 21 - Grobler, S., Franken, D., Pretorius, E.: IgG-coated latex particles and the identification of sperm antibodies. SA Med. J., 66, 97-8, 1984.
- 22 - Guyton, A.: Bağışıklık ve Allerji. "Fizyoloji" Tezetbook of Medical Physiology'den çeviri, Kazancıgel, d. (ed) s.123-42, Güven Kitabevi Yayınları, Ankara, 1977
- 23 - Hass, G.G.: Antibody-Mediated Causes of Male Infertility. Urol. Clin. North. Am., 14 (3) 539-50, 1987
- 24 - Halim, A., Antinou, D.: Autoantibodies to Spermatozoa in Relation to Male Infertility and Vasectomy, Br. J. Urol., 45, 559-62, 1973
- 25 - Halim, A., Antoniu D., Lane, J., Blandy, J.: The Singnificance of Antibodies to Sperm in Infertile Men and Their Wives. Br. J. Urol., 46, 65-67, 1974

- 26 - Hargreave, T.B., Busuttil, A.E., et al: Studies of Testicular and epididymal damage in relation to the Occurrence of Antisperm Antibodies. Br. J. Urol., 54, 769-74, 1982
- 27 - Harrison, R.G., Lewis-Jones, D.I., Marvel, M.J.M.: Mechanism of Damage to the Contralateral Testis in Rats with an Ischaemic Testis. Lancet, 2, 723, 1981
- 28 - Hendry, W.F.: Infertility: Antisperm antibodies. In "Textbook of Genito-Urinary Surgery". Whitfield, H.N., Hendry, W.F. (ed.). s: 1173-97, Longman Group, London, 1985
- 29 - Hendry, W.F., Morgan, H., Stendronska, J.: The Clinical Significance of Antisperm Antibodies in Male Subfertility. Br. J. Urol., 49, 757-62, 1977
- 30 - Hendry, W.F., Parslow, J.M., Stendronska, J.: The Diagnosis of Unilateral Testicular Obstruction in Subfertile Males. Br. J. Urol., 54, 774-79, 1982
- 31 - Hjort, T., Hansen, K.B.: Immunofluorescent Studies on Human Spermatozoa. Clin. Exp. Immunol., 8, 9-23, 1971
- 32 - Hjort, T., Husted, S., Linnet-Jepsen, P.: The Effect of Testis Biopsy on Autosensitization Against Spermatozoal Antigens. Clin. Exp. Immunol., 18, 201-9, 1974
- 33 - Hurtenbach, U., Morgenstern, F., Bennet, D.: Induction of Tolerance in vitro by Autologous Murine Testicular Cells. J. Exp. Med., 151, 827-38, 1980
- 34 - Husted, S., Hjort, T.: Microtechnique for Simultaneous Determination of Immobilizing and Cytotoxic Sperm Antibodies. Clin. Exp. Immunol., 22, 256-64, 1975
- 35 - Husted, S., Hjort, T.: Sperm Antibodies in Serum and Seminal Plasma. Int. J. Fertil., 20, 97-105, 1975
- 36 - Husted, S., Thestrup-Pedersen, K., Hjort, T.: Lymphocyte-Transformation Test with Spermatozoal Antigens in Men from Infertile Couples. Int. J. Fertil., 21, 226-31, 1976
- 37 - Ingerslev, H.J., Poulsen, F.: Bromelin for Liquefaction of Cervical Mucus in Sperm Antibody Testing: Its Effect on Spermagglutinating Immunoglobulin G. Fertil. Steril., 33 (1), 61-63, 1980

- 38 - Jager, S., Kremer, J., Van Slochteren Draaisma, T.: A Simple Method of Screening for Antisperm Antibodies in the Human Male. Detection of Spermatozoal Surface IgG with the Direct Mixed Antiglobulin Reaction Carried out on Untreated Fresh Human Semen. Int. J. Fertil., 23 (1) 12-21, 1978
- 39 - Jones, W.R.: Immunologic Infertility-Fact or Fiction?. Fertil. Steril., 33 (6) 577-86, 1980
- 40 - Jones, W.R.: Immunological Infertility and Its Diagnosis. In "Infertility Male and Female". Isler, V., Lunenfeld, B. (ed.) s: 315-31, Churchill Livingstone, Singapore, 1986
- 41 - Katsh, S., Aguirre, A., Katsh, G.: Inactivation of Sperm Antigens by Sera and Tissues of the Female Reproductive Tract. Fertil. Steril., 19 (5) 740-47, 1968
- 42 - Kerse, İ., Harmankaya, Ç., Sağlam, R., Özmemir, T., Eryiğit, M., Peker, A.: Erkek İntertilitesinde İmmünolojik Araştırmanın Tanı ve Tedavideki Yeri. Gata Bülteni, 28, 29-30, 1986
- 43 - Kibrick, S., Belding, D.L., Merrill, B.: Methods for the Detection of Antibodies against Mammalian Spermatozoa. Fertil. Steril., 3 (5) 430-38, 1952
- 44 - Krarup, T.: The Testis After Torsion. Br.J. Urol., 50, 43-49, 1978
- 45 - Kremer, J.: A Simple Sperm Penetration Test. Int. J. Fertil., 10 (3), 209-15, 1965
- 46 - Kremer, J., Jager, S., Kuiken, J.: Treatment of Infertility Caused by Antisperm Antibodies. Int. J. Fertil., 23 (4) 270-76, 1978
- 47 - Kremer, J., Jager, S., Slochteren, T.: The "Unexplained" Poor Postcoital Test. Int. J. Fertil., 23 (4) 273-81, 1978
- 48 - Lenzi, A., Gandini, L., Lombardo, F., Dondero, F.: Correlation Between Tests for the Detection of Antibodies Bound to the Sperm Surface. ACTA Eur. Fertil., 20 (3) 141-45, 1989
- 49 - Lord, E.M., Sensabaugh, G.F., Stites, D.P.: Immunosuppressive Activity of Human Seminal Plasma. J. Urol., 118 (5) 1704-1711, 1977

- 50 - Macnini, R., Andrada, J., Saraceni, D., Bachmann, A., Lavieri, J., Nemirovsky, M.: Immunological and Testicular Response in Man Sensitized with Human Testicular Homogenate. *J. Clin. Endocrin. Metabol.*, 25 (7) 859-75, 1965
- 51 - Marcus, Z. H., Freisheim, J.H., Houk, J. L., Herman, J.H., Hess, E.V.: In Vitro Studies in Reproductive Immunology. *Clin. Immun. Immunopath.*, 9, 318-26, 1978
- 52 - Marthur, S., Williamson, O., Landgrebe, S., Smith, C.L., Fudenberg, H.L.: Application of Passive Hemagglutination for Evaluation of Antisperm Antibodies and a Modified Coombs' Test for Detecting Male Autoimmunity to Sperm Antigens. *J. Immun. Method.*, 30, 381-93, 1979
- 53 - McClure, R.D.: Male Intertility. In "Smith's General Urology". Tanagho, E., McAninch, J.W. (ed.) 12. ed. s:637-62, Appleton and Lange, USA, 1988
- 54 - Meinertz, H., Hjort, T.: Detection of autoimmunity to sperm: mixed antiglobulin reaction (MAR) test or sperm agglutination. *Fertil. Steril.*, 46 (1), 86-91, 1986
- 55 - Mettler, L., Shirwani, D., Gradly, T.: The Occurrence of Sperm Antibodies in Human Reproduction. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136, 106-16, 1980
- 56 - Moghissi, K.S., Sacco, A.G., Borin, K.: Immunologic Infertility. Cervical Mucus Antibodies and Postcoital test. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 136, 941-50, 1980
- 57 - Özen, H., Asar, G., Güngör, S.: Varicocele and Antisperm Antibodies. *Int. Urol. Nephrol.*, 17, 97-103, 1985
- 58 - Ping, W.W.: Sperm Antibody Activity in Human Fallopian Tube Fluid. *Fertil. Steril.*, 32, 681-84, 1979
- 59 - Roberts, T.K., Boettcher, B.: Identification of Human Sperm-coating Antigen. *J. Reprod. Fert.*, 18, 347-50, 1969
- 60 - Rose, N.R., Hjort, T., Rumke, P., Harper, M.J.K., Vyazov, O.: Techniques for Detection of Iso and Auto-antibodies to Human Spermatozoa. *Clin. Exp. Immunol.*, 23, 175-99, 1976
- 61 - Royle, M.G., Parslow, J.M., Kingscott, M.M.B., Wallace, D.M., Hendry, W.F.: Reserval of Vasectomy: the Effects of Sperm Antibodies on Supsequent Fertility. *Br. J. Urol.*, 53, 654-59, 1981

- 62 - Rumke, P.: The Origin of Immunoglobulins in Semen. Clin. Exp. Immunol., 17, 287-97, 1974
- 63 - Rumke, P., Amstel, N., Messer, E., Bezemer, P.: Prognosis of Fertility of Men with Sperm Agglutinins in the Serum. Fertil. Steril., 25 (5) 393-97, 1974
- 64 - Rumke, P., Hellinga, G.: Autoantibodies Against Spermatozoa in Sterile Men. Am.J.Clin. Path., 32, 357, 1959.
- 65 - Rumke, P., Titus, M.: Spermagglutinin Formation in Male Rats by Subcutaneously Injected Syngeneic Epididymal Spermatozoa and by Vasoligation of Vasectomy. J. Reprod. Fert., 24, 69-79, 1970
- 66 - Sheris, R., Howards, S.: Male Infertility. In "Campbell's Urology". Walsh, P. et al (ed.) 5th ed. p: 640-697, Philadelphia, 1986,
- 67 - Schumacher, G.F.B.: Immunologic Factors in Infertility. J. Reprod. Med., 23 (6) 272-78, 1979
- 68 - Shortliffe, M.D., Wehner, N.: The Characterization of Bacterial and Nonbacterial Prostatitis by Prostatic Immunoglobulins. Medicine, 65, 399-414, 1986
- 69 - Shortliffe, L.D., Wehner, N., Stamey, J.: The Detection of a Local Prostatic Immunologic Response to Bacterial Prostatitis. J.Uro., 125, 509-513, 1980.
- 70 - Shulman, S.: Treatment of Immune Male Infertility with Methylprednisolone. Lancet., 4, 1243, 1976
- 71 - Shulman, S., Friedman, M.: Antibodies to Spermatozoa: Antibody Activity in Human Cervical Mucus. Am. J. Obstet. Gynecol., 1, 101-105, 1979
- 72 - Shulman, S., Harlin, B., Davis, P., Reyniak, J.V.: Immune Infertility and New Approaches to Treatment. Fertil. Steril., 29 (3) 309-13, 1978
- 73 - Soffer, Y., Marcus, Z.H., Bukovsky, I., Capsi, E.: Immunological Factors and Post Coital Test in Unexplained Infertility. Int. J. Fertil., 21, 89-95, 1976
- 74 - Sullivan, M.J., Howe, G.E.: Correlation of Circulating Antisperm Antibodies to Functional Success in Vasovasostomy, J. Urol., 117, 1977

- 75 - Telang, M., Reyniak, J.V., Shulman, S.: Antibodies to Spermatozoa. Correlation of Sperm Antibody Activity with Postcoital Tests in Infertile Couples. Int. J. Fertil., 23 (3), 200-6, 1978
- 76 - Tung, K.: Human Sperm Antigens and Antisperm Antibodies on Vasectomy Patients. Clin. Exp. Immunol., 20, 93-104, 1975
- 77 - Tung, K.S.K.: Human Sperm Antigens and Antisperm Antibodies: Studies on Acrosomal Antigens. Clin. Exp. Immunol., 24 292-99, 1976
- 78 - WHO Reference Bank: Auto-and iso-antibodies to antigens of the Human reproductive system: Results of an international comparative study. Clin. Exp. Immunol., 30, 173-80, 1977
- 79 - Windt, M., Werwe, J., Kruger, T., Menkveld.: Autosperm Antibodies in Treated Pregnant and Non-pregnant Immunologically Infertile Patients. ACTA Eur. Fertil., 20 (3) 147-50, 1989
- 80 - Witkin, S.S., David, S.S.: Abnormal reactivity of Spermatozoa with Immunoglobulin: Case Report of an Infertile Couple. Fertil. Steril., 45 (1) 138-40, 1986
- 81 - Witkin, S.S., Toth, A.: Relationship between genital tract infections, sperm antibodies in seminal fluid, and infertility. Fertil. Steril., 40, 805-9, 1983
- 82 - Yaman, L.S., Müftüoğlu, Y.Z., Anafarta, K., Bedük, Y.: Erkek Infertilitesi. "Üroloji". s: 483-508, Güneş Kitabevi, Anafarta, K. (ed), 1. baskı, Ankara, 1990