

İNFERTİL HASTALARDA SEMİNAL PLAZMA IL-1BETA, IL-6 VE IL-8 DÜZEYLERİ

THE LEVEL OF SEMINAL PLASMA IL-1BETA, IL-6 AND IL-8 IN PATIENTS WITH INFERTILITY

ORHAN İ., ONUR R., ŞENOL F.A., SEMERCİÖZ A.

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, ELAZIĞ

ÖZET

Bu çalışmada, inflamasyon ve immün cevapta önemli rol oynayan sitokinlerden interlökin (IL)-1beta, IL-6 ve IL-8'in infertil hastaların tanısındaki yeri araştırıldı.

Bu amaçla infertilite nedeniyle değerlendirilen ve 12'sinde seminal plazmada lökosit saptanması dışında ek bir infertilite patolojisi saptanmayan toplam 25 hasta çalışmaya alındı. Ayrıca 10 fertil gönüllüde kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Tüm hastaların seminal plazmalarında IL-1beta, IL-6 ve IL-8 değerleri kemiluminisans yöntemi ile ölçüldü ve her gruptaki değerler ayrı ayrı karşılaştırıldı.

IL-1beta düzeyleri açısından her üç gruptaki hastalar arasında anlamlı fark saptanmazken IL-6 ve IL-8 enfeksiyonla birlikte infertilite belirlenen hastalarda anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Ayrıca IL-6 seviyesi sadece infertilite belirlenen grupta kontrol grubundan daha yüksek oranlarda belirlendi.

Özellikle IL-8 olmak üzere bazı sitokinler infertil hastalarda enfeksiyon ve inflamasyonun tanısında kullanılabilirler. Ancak sitokinlerin infertilite üzerine etkisini belirlemek için daha geniş hasta serilerinde ve değişik sitokinlerle değerlendirme yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, sitokin, enfeksiyon

ABSTRACT

In this study, the role of interleukin (IL)-1beta, IL-6 and IL-8, which have important roles in inflammation and immune response, was assessed in diagnosis of patients with infertility.

For this purpose, a total of 25 patients evaluated for infertility without additional infertility pathology were included into the study. Of the patients, only leukocyte was determined in seminal plasma in twelve patients and no other infertility pathology was determined. Additionally, 10 fertile volunteer male was included into the study as control group. Seminal plasma IL-1beta, IL-6 and IL-8 levels were measured in all patients using chemiluminescence method and the results of the assays were compared in each group.

There was no difference between the three groups when they were compared in respect to IL-1beta levels, but the level of IL-6 and IL-8 were found to be significantly increased in patients having infertility and infection, concomitantly ($P<0.05$). Additionally, only the level of IL-6 in infertility group was determined higher than the control group.

IL-6 and especially IL-8 were found to be increased in seminal plasma of patients with infection and inflammation. However, to determine the definitive effects of cytokines in infertility, there's need for further researches with wide series of patients using different cytokines.

Key Words: Infertility, cytokines, infection

GİRİŞ

Erkek infertil hasta grubunun büyük bir kısmında infertilite etyolojisi tam olarak belirlenmemektedir. Bu idiyopatik infertil hasta grubunun etyolojisinde erkek genital sistem subklinik enfeksiyonları ve inflamatuvar olaylarının rol oynayabileceği bildirilmektedir¹. Semende pH, vizkozite ve renk değişiklikleri, artmış lökosit sayısı ve sperm motilitesinde azalma gibi bulgularla ortaya çıkan bu enfeksiyon ve inflamasyonların

spesifik tanı yöntemleri halen yeni araştırma konularıdır².

Sitokinler çeşitli hücrelerden salgılanan polipeptid ve glikoprotein yapıda immün regülatör moleküllerdir³. Enfeksiyon ve inflamasyonda etkin olan bu moleküllerin, erkek infertilite etyolojisinde rol oynayabilecek ve bu gibi patolojilerin tanısında kullanılabilecekleri bildirilmektedir⁴⁻⁹.

Bu çalışmada erkek infertilitesinde, genital sistem inflamasyon ve enfeksiyonunun tanısında IL-1beta, IL-6, IL-8'in yeri araştırıldı.

Dergiye Geliş Tarihi: 04.04.2001

Yayına Kabul Tarihi: 10.01.2002

GEREÇ ve YÖNTEM

Ocak ve Aralık 2000 tarihleri arasında infertilite nedeniyle polikliniğimize başvuran ve rutin değerlendirmelerinde (spermiyogram, hormon parametreleri, vs.) oligo- ve/veya asthenospermi saptanan hastalardan, infertiliteyi açıklayacak etyolojik bir sebep belirlenmeyen 13 ve genital sistem enfeksiyonu ve inflamasyon dışında ek bir infertilite sebebi saptanmayan 12 hasta çalışmaya alındı. Genital sistem enfeksiyon ve inflamasyon tanısı, semen kültüründe bakteriyel üreme saptanması ve/veya, semen analizinde $1 \times 10^6/\text{ml}$ lökosit saptanması ile kondu¹. Ayrıca fertilitite değerlendirmeleri normal olan 10 gönüllüde, yapılacak işlem hakkında bilgilendirilerek kontrol grubu olarak çalışmaya alındı.

Seminal plazma sitokin düzeylerini belirlemek için tüm hastalara üç günlük cinsel perhiz uygulandı ve semen örnekleri mastürbasyonla elde edildi. Ejakülat örnekleri steril tüplere konularak oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi ve 10 dakika süre ile 4000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatant seminal plazma örnekleri alınarak IL-1beta, IL-6 ve IL-8 düzeyleri hormon analizatör kullanılarak kemiluminisans yöntemi ile ölçüldü (Immulyte, DPC, Los Angeles, USA).

Kontrol grubu ve çalışma grubundaki hastaların seminal plazma sitokin düzeyleri ayrı ayrı karşılaştırıldı ve istatistiksel analizlerde Mann Whitney- U ve Student's t testleri kullanıldı.

SONUÇLAR

Yaş ortalaması $28,27 \pm 3,16$ (20-35) olan hastaların, yaş ortalamaları açısından her üç grup arasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). İnfertilite nedeni ile çalışmaya alınan 25 oligoasthenospermik hastanın 13'ünde herhangi bir etyolojik sebep (varikosel, enfeksiyon gibi) saptanmazken, 12 hastada sadece seminal plazmada lökosit sayısında artma ve/veya semen kültüründe üreme belirlendi.

Kontrol grubu ile oligoasthenospermi ve oligoasthenospermi ile birlikte piyospermi belirlenen gruplarda sperm sayı ve motiliteleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 1). Sadece oligoasthenospermi saptanan grupla piyospermi ile birlikte oligoasthenospermi saptanan gruplar arasında ise sperm sayı ve motiliteleri bakımından anlamlı fark belirlenmedi (Tablo 1).

	Sayı (106/ml)	Motilite (%)
Oligo ve/veya asthenospermi (n=12)	16.84	36.69
Oligo ve/veya asthenospermi, Piyospermi (n=13)	13.47	29.38
p	0.070	0.346

Tablo 1. İnfertil 25 hastanın piyospermi saptanan ve saptanmayan gruplardaki sperm sayı ve motilite dağılımı.

IL-1beta, IL-6 ve IL-8 düzeyleri ayrı ayrı ölçülüp karşılaştırılan her üç gruptaki hastaların, IL-1beta düzeyleri arasında anlamlı fark belirlenmedi ($p > 0,05$). Kontrol grubundaki hastaların IL-6 değerleri hem oligoasthenospermik hem de piyospermi ile birlikte oligoasthenospermi saptanan gruplardan anlamlı olarak düşük saptandı. Ayrıca IL-6 düzeyi enfeksiyon saptanan grupta, sadece oligoasthenospermi saptanan gruptan anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Tablo 2). Kontrol ve izole oligoasthenospermi saptanan gruplar arasında IL-8 düzeyleri açısından fark saptanmazken, piyospermi belirlenen gruptaki IL-8 düzeyi her iki gruptan da anlamlı olarak yüksek bulundu (Tablo 2).

	*IL-1beta (pg/ml)	** IL-6 (pg/ml)	*** IL-8 (pg/ml)
Kontrol grubu	48.20 ± 34.61	15.29 ± 5.03	772.5 ± 263.05
Oligo ve/veya asthenospermi saptanan grup	51.93 ± 35.43	24.14 ± 10.23	863.53 ± 567.5
Oligo ve/veya asthenospermi ve enfeksiyon saptanan grup	48.23 ± 37.5	45.33 ± 18.94	1983.08 ± 561.07

Tablo 2. IL-1beta, IL-6, IL-8'in her üç gruptaki dağılımı (*Kontrol grubu ve infertil gruplar arasında IL-1beta seviyeleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($P > 0.05$); **IL-6 infertil hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P = 0.026$). Ayrıca infertilite ve enfeksiyon saptanan grupta da sadece infertilite saptanan gruptan anlamlı olarak yüksek bulundu ($P = 0.002$); ***IL-8 enfeksiyonla birlikte infertilite saptanan grupta kontrol grubu ile sadece infertilite saptanan gruptan anlamlı olarak yüksek saptandı ($P < 0.001$))

TARTIŞMA

Erkek infertilitesinin, infertilite etyolojisinin yaklaşık yarısında rol oynadığı bildirilmektedir. Erkek infertil hastaların büyük bir kısmında, infertilite sebebi tam olarak saptanamamaktadır⁴. İnfertilite etyolojisi belirlenemeyen bu hastalarda

olası gizli genital sistem enfeksiyonlarının infertiliteye sebep olabileceği, immün sistem hücreleri ile serbest oksijen radikalleri, proteazları ve sitokinler gibi bazı moleküllerinde bu olayda rol oynayabileceği bildirilmektedir^{2,3,10,11,12,13}.

Sitokinler organizmada immün sistemin regülasyonunda ve inflamatuvar olaylarda önemli rol oynayan moleküllerdir. Yabancı antijenlere ve ajanlara karşı organizmanın reaksiyonlarının kontrol ve düzenlenmesinde etkin olan sitokinler, aynı zamanda hücreler arası ilişkileri de düzenleyerek lokal ve sistemik inflamatuvar cevapta önemli rol oynarlar. Sitokinler hormona benzetmekle birlikte özelleşmiş dokulardan değil de, çeşitli hücreler tarafından yapıldıkları için hormon kabul edilmezler¹⁴. Peptid ve glikoprotein yapısında olan, ayrıca molekül ağırlıkları 6.000 ile 60.000 dalton olan bu moleküller, birçok hücrenin aktivasyonu ile salgılanmaktadır¹⁴. Özellikle infertil hasta grubunda IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF-alfa gibi çeşitli sitokinlerin etkinliği araştırılmış ve bazı sitokinlerin infertilitede etkin olduğu bildirilmiştir^{4,8}. Çalışmamızda sitokinlerden IL-1beta, IL-6 ve IL-8'in erkek infertilitesindeki yeri araştırıldı.

IL-1 iki farklı proteinden oluşmaktadır. İkinci kromozom üzerinde iki ayrı gen tarafından meydana getirilen IL-1alfa ve IL-1beta'nın antijenik yapıları farklı olmasına rağmen biyolojik aktivite ve etkinlikleri aynıdır¹⁴. Organizmada hemen hemen bütün hücrelerde yapılmasına rağmen, IL-1 daha çok makrofajlar, keratinositler, düz kas hücreleri ve nötrofiller tarafından yapılmaktadır^{4,14}. Hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanarak etki ettiği bilinmekle birlikte tam olarak etki mekanizması belirlenmemiştir^{4,14}. Dousset ve arkadaşları IL-1beta'yı infertil hastalarda yüksek değerlerde saptanmışlardır. Ancak bu değerlerin infertilite etyolojisinde etkin olacak patolojilerden bağımsız olduğu ve rutin değerlendirme için uygun bir parametre olmadığını bildirmişlerdir⁹. Huleihel ve arkadaşları ise infertil hastaların seminal plazma IL-1beta düzeylerinin fertil gruptan farklı olmadığını bildirmişlerdir⁴. Çalışma grubumuzdaki toplam 25 infertil hasta ile kontrol grubu arasında da IL-1beta düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı.

IL-6, T ve B lenfositleri, monositler, keratinositler ve endotelial hücrelerden sentez edilen

ve 184 aminoasitten oluşan bir sitokindir¹⁴. B lenfositlerin antikor yapabilmeleri için gerekli temel faktörlerden biridir. Ayrıca makrofajlarda C3b, Fc gamma belirginleşmesi ve fagositozu artırıcı etkisi de vardır. İnfertil hastalardaki etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte bazı çalışmalarda IL-6'nın infertil hastaların değerlendirilmesinde yeri olmadığı bildirilmiştir^{3,4,9}. Ancak Matalliotakis ve arkadaşları fertil ve infertil hastalar arasında IL-6 düzeyleri arasında anlamlı fark saptadıklarını ve özellikle erkek genital sistem enfeksiyonlarının fertilitate etkisinin belirlenmesinde bu sitokinin kullanılabileceğini bildirmişlerdir⁵. Gruschwitz ve arkadaşları da infertil hastaların IL-6 düzeylerinin fertil erkeklerden daha yüksek oranda bulduklarını bildirmişlerdir⁶. Çalışma grubumuzdaki infertil hastalarda saptanan IL-6 değerleri, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti. Ayrıca enfeksiyonla birlikte infertilite saptanan gruptaki değerlerde sadece oligoasthenospermi saptanan gruptan anlamlı olarak yüksek saptandı.

IL-8 periferik kan mononükleer hücreleri, fibroblastlar, endotelial hücreler ve keratinositler tarafından sentezlenir. İmmün cevapta inflamasyon bölgesine nötrofil kemotaksisine sebep olan en önemli mediyatördür¹⁴. Bu özelliği sebebiyle monosit kökenli büyüme faktörü (MDGF) olarak ta adlandırılmıştır. Nötrofiller üzerinde spesifik IL-8 reseptörlerinin saptanması ve immün cevapta inflamatuvar bölgeye lökosit migrasyonuna sebep olması nedeniyle IL-8'in vücut savunmasında çok önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir¹⁴. İnfertilite ile birlikte enfeksiyon saptanan hastaların seminal plazma IL-8 düzeylerinin arttığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir^{2,6}. Çalışma grubumuzdaki infertil hastaların içinde piyospermi saptanan hastaların seminal plazma IL-8 değerleri hem kontrol grubundan, hem de sadece oligoasthenospermi belirlenen infertil hastalardan daha yüksek değerlerde saptandı.

Sonuç olarak çalışmamızda IL-6 ve IL-8'in infertilite etyolojisinde etkin olabileceği ve özellikle IL-8'in enfeksiyon ve inflamasyon sonucu oluşan infertilitenin değerlendirilmesinde kullanılabileceği saptandı. Ancak sitokinlerin infertilite etyolojisindeki yerinin tam olarak belirlenmesi için, daha geniş hasta gruplarında ve daha fazla sayıda sitokinlerle araştırılma yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- 1- **Deborah J:** The effect of genital tract infection and inflammation on male infertility; Lipshultz L, Howards S: Infertility in the male vol.4, 326-333, 1997
- 2- **Koichiro S, Noboru M, Tayeki T, et al:** Detection of interleukin-8 (IL-8) in seminal plasma and elevated IL-8 in seminal plasma of infertile patients with leukospermia. Fertil And Steril. 59 (4): 885-888, 1993
- 3- **Mahmoud H, Eitan L, Ayelet L, et al:** Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertile and infertile men. Fertil and Steril. 66 (1): 135-139, 1996
- 4- **Huleihel M, Lunenfeld E, Horowitz S, et al:** Expression of IL-12, IL-10, sIL-2R and sIL-6R in seminal plasma of fertile and infertile men. Andrologia. 31: 283-288, 1999
- 5- **Matalliotakis I, Kiriakou D, Fragouli I, et al:** Interleukin-6 in seminal plasma of fertile and infertile men. Arch Androl. 41(1): 43-50, 1998
- 6- **Gruschwitz MS, Brezinschek R, Brezinschek HP:** Cytokine levels in the seminal plasma of infertile males. J Androl. 17(2): 158-163, 1996
- 7- **Koumantakis E, Matalliotakis I, Kyriakou D, et al:** Increased levels of interleukin-8 in human seminal plasma. Andrologia. 30(6):339-343, 1998
- 8- **Paradisi R, Mancini R, Bellavia E, et al:** T-helper 2 type cytokine and soluble interleukin-2 receptor levels in seminal plasma of infertile men. Am J Reprod Immunol. 38(2): 94-99, 1997
- 9- **Dousset B, Hussenet F, Daudin M, et al:** Seminal cytokine concentration (IL-1beta, IL-2, IL-6, sR IL-2, sR IL-6), semen parameters and blood hormonal status in male infertility. Hum Reprod. 12(7): 1476-1479, 1997
- 10- **Aitken RJ, Baker HWG:** Seminal leukocytes: Passengers, terrorists or good samaritans? Hum Reprod. 10: 1736-1739, 1995
- 11- **Maruyama DK, Hale RW, Rogers BJ:** Effect of white blood cells on in vitro penetration of zona-free hamster eggs by human spermatozoa. J Androl: 127-135, 1985
- 12- **Hill JA, Haimovici F, Politch JA, Anderson DJ:** Effect of soluble products of activated lymphocytes and macrophages (lymphokines and monokines) on human sperm motion parameters. Fertil Steril. 47: 460-465, 1985
- 13- **Wolff H:** The biological significance of white blood cells in semen. Fertil Steril. 63: 1143-1157, 1995
- 14- **Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M:** İnterlökinler. T Klin Med Sci. 18: 77-81, 1998