

Astenozoospermi olgularında semende lökosit değerlendirmesi

Leukocyte analysis of the semen in the subjects with asthenozoospermia

Elvan Ok¹, Doğan Özyurt², Bülent Gülekli¹

¹Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tüp Bebek Merkezi, İzmir

²Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir

Özet

Amaç: Bu çalışmada astenozoospermi (sperm motilite düşüklüğü) ile lökosperti ilişkisinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve yöntem: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran toplam 89 erkek (sperm motilite bozukluğu olan 36 olgu ile motilite bozukluğu olmayan 53 erkek) çalışmaya dahil edildi. Semen örneği makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirildi. Sperm motilite ve konsantrasyon değerlendirmesi için Makler sayım kamerası; semende lökosit bakışı için ise lökositin boyası kullanıldı.

Bulgular: Normal hareketliliğe sahip 53 semen örneğinin sadece birinde (%1.88) lökosperti saptanırken, hareket bozukluğu olan 36 semen örneğinin ise 3'ünde (%8.34) lökosperti gözlemlendi (p=0.303).

Sonuç: Çalışmamızda sperm motilite düşüklüğü ile lökosperti arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak erkek infertilitesinde önemli bir yer tutan astenozoospermi olgularında semende lökosit bakışı için daha fazla hasta ile yapılan çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar sözcükler: Astenozoospermi; lökosperti; sperm motilitesi.

Abstract

Objective: To examine the relationship between asthenozoospermia (reduced sperm motility) and leukospermia.

Materials and methods: A total of 89 male patients, 36 with sperm motility disorder and 53 without any motility disorder, applying to the IVF Unit of Dokuz Eylül University Medical Faculty, Department of Obstetrics and Gynaecology were included in the study. Semen samples were examined in both macroscopic and microscopic levels. Makler counting chamber was used for the sperm motility and concentration analysis. Leukocytic stain was for the semen leukocyte analysis.

Results: Leukospermia was detected in only one (1.88%) of the 53 semen samples with no motility disorder and in three (8.34%) of the 36 semen samples with sperm motility disorder (p=0.303).

Conclusion: Although no significant correlation was determined between reduced sperm motility and leukospermia, further studies with more patients are needed for semen leukocyte analysis in asthenozoospermic cases which account for a significant proportion of all cases of male infertility.

Key words: Asthenozoospermia; leukospermia; sperm motility.

Geliş tarihi (Submitted): 10.07.2008

Düzeltilme sonrası kabul tarihi (Accepted after revision): 13.03.2009

Giriş

Sperm motilite bozuklukları (astenozoospermi) erkek infertilitesi nedenleri arasında önemli bir yer tutmaktadır.^[1-3] Sperm motilitesi yeterli miktarda ATP, fonksiyonel aksonemal dinein ATPazları ve aksonemlerin içinde yüzdükleri normal bir iyon ortamı gibi hücre içi faktörlerin karşılıklı etkileşimi sonucu ortaya çıkmaktadır. Hareketliliğin başlatılması ve sürdürülmesinde bu faktörler temel gereksinimdir. Bu temel gereksinimi etkileyebilecek herhangi bir dış faktör hareketliliği bozmaktadır.^[1]

Sperm hareket bozukluklarına pek çok faktör neden olabilmektedir. Enfeksiyon, bakteri ve bakteri ürünleri, sitokinler, anormal spermatozoa gibi faktörler sperm hareketliliğini olumsuz olarak etkileyebilmektedir.^[1]

Semende lökosit artışı olan lökosperti durumlarında da sperm fonksiyonları ve motilitesi etkilenebilmektedir. Direkt mikroskopik bakıda yuvarlak hücre olarak gözlenen hücreler, immatür germ hücreleri veya lökosit olarak değerlendirilir. Bu iki hücre tipinin ayrımında sitolojik boyamalar ve immunohistokimyasal yöntem-

ler kullanılır.^[1] Lökospermili (1 milyon/mL'den fazla lökosit varlığı) hastalar ayrıca genital enfeksiyon veya inflamasyon açısından da değerlendirilir.^[1-3]

Bu çalışmada astenozoospermi ile lökosperti ilişkisinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve yöntem

Çalışma tasarımı ve popülasyonu

Bu çalışma kontrollü prospektif bir çalışma olarak tasarlandı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran toplam 89 erkek (sperm motilite bozukluğu olan 36 ve motilite bozukluğu olmayan 53) birey çalışmaya dahil edildi. Sperm parametreleri normal olan 53 erkeğin yaş ortalaması 34.64 ± 0.66 ve sperm motilite bozukluğu olan 36 bireyin yaş ortalaması 34.25 ± 0.96 olarak kaydedildi. Tüm bireylere ayrıca sigara kullanıp kullanmadığı, kullananların günde kaç tane sigara içtiği soruldu.

Semen analizi

Semen örnekleri mastürbasyon yöntemi ile 4 günlük ideal cinsel perhiz sonrası elde edildi. Mastürbasyonla elde edilen semen örneği steril ve geniş ağızlı bir kapta toplandı. Semen likefaksiyonu için 30 dakika beklendi. Tüm semen örneklerine makroskopik değerlendirme yapıldıktan sonra, örneklerde mikroskopik değerlendirme ile sperm sayısı ve motilitesi saptandı. Mikroskopik değerlendirme faz kontrast mikroskobu ile yapıldı.

Sperm hareketliliği ve konsantrasyon değerlendirmesi için Makler sayım kamerası kullanıldı. Semen örnekleri 37°C 'de bekletildi ve hareketlilik değerlendirmesi ejakülasyondan sonra bir saat içinde oda sıcaklığında yapıldı. Sperm konsantrasyonu ve motilite sperm yüzdesi WHO (*World Health Organization*) kriterlerine göre belirlendi.^[3] Her semen örneğinde 200 sperm sayıldı.

Her bir spermin motilitesi; hızlı ileri hareketli, yavaş ileri hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz (immotil) olmak üzere 4 kategoride skorlandı. Mikroskop alanını

lineer motilite ile geçen sperm ileri hareketli olarak değerlendirildi. Lineer motilitesi olmayan spermlemler, lineer motilitesi olan spermlemlerin toplam yüzdesi ise toplam hareketlilik olarak belirlendi. Ejakülasyondan sonra 60 dakika içinde %50 ve daha fazla ileri motilitesi (hızlı ileri hareketli ve yavaş ileri hareketli) veya %25'den fazla hızlı ileri motilitesi olan örnekler sperm hareketliliği açısından normal kabul edildi.

Semende lökosit bakışı için özel testler bilinmemektedir.^[4,5] Bu çalışmada semende lökosit bakışı için lökositin (*Leucoscreen*) boyası kullanıldı. Semende 1 milyon/mL'nin üzeri lökosit varlığı lökosperti olarak kabul edildi.

Lökositin boya prosedürü

Bir gün önceden solüsyon hazırlandı ve 1mL Kit 1'e 30 µL Kit 2 eklendi. Bu solüsyon hazırlandıktan sonra 1 gün bekletildi. Bir damla (10 µL) sperm ve bir damla (10 µL) bir gün önceden hazırlanmış solüsyon lam üzerine damlatılıp lam köşesi ile karıştırıldı. İlk 2 dakikalık karıştırmadan sonra hava kabarcığı oluşmamasına dikkat edilerek üzerine lamel kapatıldı. İki dakika sonra örnekler faz kontrast mikroskopta $\times 400$ 'de incelendi, gözlenen sarı-kahverengi hücreler lökosit olarak değerlendirildi.^[6]

İstatistiksel analizde ki-kare testi kullanıldı.

Bulgular

Yapılan mikroskopik değerlendirme sonucu normal hareketliliğe sahip 53 semen örneğinin sadece birinde lökosperti saptanırken, hareket bozukluğu olan 36 semen örneğinin ise 3'ünde lökosperti gözlemlendi (Tablo ve Şekil). Sperm motilite düşüklüğü ile lökosperti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı ($p=0.303$).

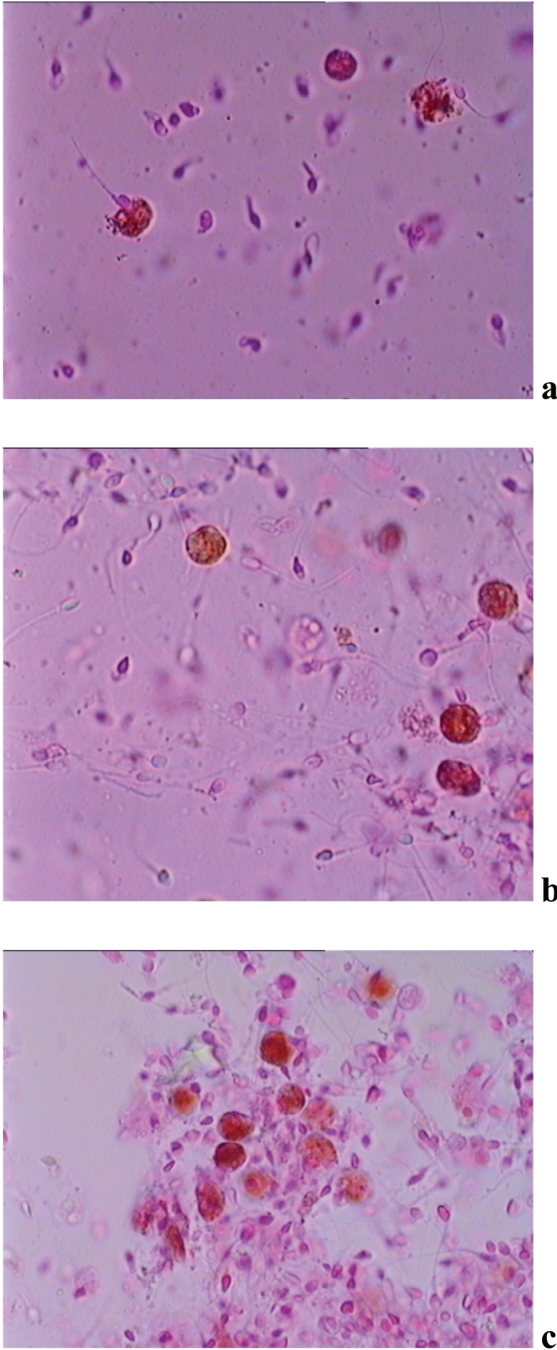
Semen örneklerinde lökosperti saptanan erkeklerin anamnezlerinden sigara içmedikleri belirlendi.

Tartışma

Lökosperti ile astenozoospermi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada lökosperti ile asteno-

Tablo. Motilitesi normal ve anormal olan semen örneklerinde lökosperti. Veriler örnek sayısı (%) olarak verilmiştir.

Lökosit sayısı	Motilite normal semen örneği (n=53)	Motilite anormal semen örneği (n=36)	Toplam (n=89)
≤ 1 milyon/mL	52 (%98.12)	33 (%91.66)	85 (%95.50)
> 1 milyon/mL	1 (%1.88)	3 (%8.34)	4 (4.50)
Motilite normal ve anormal grup karşılaştırması için $p=0.303$, ki-kare testi			



Şekil

Hareket bozukluğu ve lökospermi belirlenen üç semen örneğininin lökositin boyama görüntüsü, x400. (a) kahverengi renkte üç lökosit ve sperm, (b) kahverengi renkte dört lökosit ve sperm ve (c) kahverengi renkte küme halinde lökositler ve sperm.

zoospermi arasında direkt bir ilişki saptanmamıştır. [7] Bazı yayınlarda ise semenin fertilizasyon potansiyeli ile beyaz kan hücreleri arasındaki ilişkinin henüz açıklığa kavuşmadığı, ancak semende lökosit varlığı

ğının serbest oksijen radikalleri üretimine yol açtığı bildirilmiştir.[8] Serbest oksijen radikalleri de sperm motilitesini olumsuz etkilemektedir.[8,9] Bir başka çalışmada ise artmış sitokinlerin erkek infertilitesi etyopatogenezinde rol oynayabileceği gösterilmiş ve infertilite incelemelerinde ve subklinik genital sistem enfeksiyonu tanısında interlökin-2 (IL-2) ve tümör nekroz fakötürü-alfa (TNF-alfa)'nın etkili olabileceği belirtilmiştir.[10]

Sigaranın semende lökosit artışına neden olduğu savunulmuştur.[11] Bizim çalışmamızda ise lökospermi saptanan erkeklerin sigara içmedikleri görülmüştür.

Çalışmamızda sperm hareketliliği düşük olan grupla hareketliliği normal olan grup karşılaştırıldığında lökosit sayısında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu sonuç Curi ve ark. çalışmasını destekler niteliktedir.[7]

Sonuç olarak erkek üreme sistemini etkileyen enfeksiyöz faktörler ve hücreler fertilitiyi bozucu etkilere sahip olabilirler. Çalışmamızda sperm motilite düşüklüğü ile lökospermi arasında anlamlı bir ilişki saptanmamış olmakla beraber, erkek infertilitesinde önemli bir yer tutan astenozoospermi olgularında semende lökosit bakışı için daha fazla hasta ile yapılan çalışmalara gereksinim olduğu düşüncesindeyiz.

Teşekkür

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 99.3456.23 sayı ile desteklenmiştir.

Makalenin istatistik değerlendirilmesinde katkıda bulunan Illinois State Üniversitesinden Doç. Olcay Akman'a ve çalışma süresince yardımlarından dolayı Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Merkezi çalışanlarına teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Aydos K. Sperm motilitesini etkileyen faktörler.http://www.androloji.info/motilite_bozukluklari_dis_faktörler.php (04.08.2009).
2. Purvis K, Christiansen E. Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. Int J Androl 2008;16:1-13.
3. WHO Laboratory manuel for the examination on human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Pres, 1999. p. 4-33.
4. Vicdan K, Işık AZ. In vitro fertilizasyon ve mikromanipülasyon uygulamalarında laboratuvar. Çağdaş Medikal Kitabevi, 1999. p. 82-99.

5. Can C, Turgut M. İnfertilite açısından erkeğin genel olarak değerlendirilmesi. Hassa H (ed): İnfertil olgulara klinik yaklaşım ve IVF laboratuvar uygulamaları. 2003. p. 141-5.
 6. Thomas J, Fishel SB, Hall JA, Green S, Newton TA, Thornton SJ. Increased polymorphonuclear granulocytes in seminal plasma in relation to sperm morphology. Hum Reprod 1997;12:2418-21.
 7. Curi SM, Ariagno JI, Chenlo PH, Mendeluk GR, Pugliese MN, Sardi Segovia LM et al. Asthenozoospermia: analysis of a large population. Arch Androl 2003;49:343-52.
 8. Frazcek M, Sanocka D, Kurpisz M. Interaction between leucocytes and human spermatozoa influencing reactive oxygen intermediate release. Int J Androl 2004;27:94-100.
 9. Speroff L, Glass RH, Kase NK. Klinik jineko-lojik endokrinoloji ve infertilite. Erk A (çev ed): İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 1996. p. 884-5.
 10. Onur R, Bodakçı MN, Fırdolaş F, Orhan İ, Gödekmerdan A. Lökospermili ve idiyopatik oligoastenospermik infertil hastalarda sitokinlerin rolü. Türk Üroloji Dergisi 2005;31:197-201.
 11. Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K. The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. Hum Reprod 2002;17:1554-9.
- Yazışma (Correspondence):** Yard. Doç. Dr. Elvan Ok. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Tıp Bebek Merkezi, 35000, İzmir
Tel: +90232-412 31 81 GSM: 532 303 81 61
e-posta: elvan.ok@deu.edu.tr