

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**FERTİL VE İNFERTİL OLGULARDA SEMİNAL PLAZMA CHLAMYDİA
TRACHOMATİS VE HUMAN PAPİLLOMA VİRUS ENFEKSİYONU
VARLIĞI İLE SEMİNAL SIVI SİTOKİNLERİ VE SPERM
PARAMETRELERİNE OLAN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr.Tamer ÇALIŞKAN

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç.Dr.İzzet KOÇAK

AYDIN-2007

Uzmanlık eğitimim boyunca engin bilgi, beceri ve deneyimlerinden yararlandığım,
hiçbir zaman destek ve imkanlarını esirgemeyen iyi bir hekim olmanın ancak iyi ve
erdemli bir insan olmakla mümkün olabileceğini kendisini tanıdıkça öğrendiğim tez
hocam sayın Doç.Dr.İzzet KOÇAK'a,

Asistanlık dönemim boyunca eğitimime katkılarından ve bizlere kazandırdığı
akademik bakış açısından dolayı bölüm başkanımız sayın Prof.Dr.Haluk EROL'a,

Eğitimim süresince bilgi ve becerilerinden yararlandığım sayın hocalarım
Prof.Dr.Hakan GEMALMAZ ve Doç.Dr.Mehmet DÜNDAR'a,

Tez çalışmam sırasında bilgi, deneyim ve tecrübelerini esirgemeyen sayın
Yrd.Doç.Dr.Sevin KIRDAR ve Yrd.Doç.Dr.Mukadder SERTER'e,

İstatistiksel değerlendirmelerdeki yardımları için sayın Doç.Dr.Pınar OKYAY'a

Dr.Eda Kazak ve tüm çalışma arkadaşlarıma,

İleriye doğru attığım her adımda ve yapmayı başarabildiğim her işin arkasında
sonsuz sevgi ve desteği olan sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

EN İÇTEN TEŞEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

Dr.Tamer ÇALIŞKAN

AYDIN / 2007

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
I. ÖZET	1
II. ABSTRACT	3
III. GİRİŞ	5
III.1. ERKEK İNFERTİLİTESİ	5
III.1.1.Tanımı ve Sıklığı	5
III.1.2. İnfertilitede Enfeksiyon ve İnflamasyonun Yeri	5
III.1.3. İmmünolojik İnfertilite	6
III.1.4. İnfertilite ve Varikozel	10
III.2. ERKEK ÜREME FİZYOLOJİSİ	12
III.2.1.Hipotalamus-Hipofiz-Testis Aksı	13
III.2.2.Spermatogenez	13
III.3. ERKEK İNFERTİLİTESİNİN NEDENLERİ	15
III.3.1.Pretestiküler Nedenler	15
III.3.2.Testiküler Nedenler	15
III.3.3.Posttestiküler Nedenler	16
III.4. CHLAMYDİA TRACHOMATİS	17
III.4.1.Genel Özellikleri	17
III.4.1.1. Sınıflama	17
III.4.1.2 Yaşam Döngüsü	18
III.4.2. Patogenez	19
III.4.3. Genital sistem infeksiyonları	20
III.4.4. Klinik Belirtiler ve Bulgular	21

III.4.5. Non-LGV suşlar ile oluşan genital enfeksiyonlar	21
III.4.5.1. Erkeklerde görülen enfeksiyonlar	21
III.4.5.2. Kadınlarda görülen enfeksiyonlar	24
III.4.6. Tanı	26
III.4.6.1. Özgül Yöntemler	26
III.4.6.1.1. Sitolojik inceleme	26
III.4.6.1.2. Hücre kültüründe izolasyon	27
III.4.6.1.3. Antijen arama	27
III.4.6.1.4. Nükleik asit arama	28
III.4.6.1.5. Seroloji	28
III.4.6.2. Özgül olmayan yöntemler	29
III.5. HUMAN PAPİLLOMA VİRUS	30
III.5.1. Etyoloji ve Patogenez	30
III.5.2. Epidemiyoloji	31
III.5.3. Klinik Belirtiler	32
III.5.4. Tanı	34
III.6. SİTOKİNLER	35
III.6.1. Sitokin Reseptörleri	36
III.6.2. Sitokin Etkilerinin Düzenlenmesi ve Sitokin Antagonistleri	37
III.6.3. Enfeksiyon ve İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü	38
IV. AMAÇ	41
V. GEREÇ VE YÖNTEM	42
IV.1. Semen Örneklerinin Toplanması ve Sperm Analizi	42
IV.2. HPV ve Chlamydia Trachomatis'in Tespiti	42
IV.2.1. Ayraçlar	42

IV.2.2. Semen örneklerinden HPV DNA'nın ekstraksiyonu	45
IV.2.3. PCR ile Çoğaltma	45
IV.2.4. Elektroforez	48
IV.3.Seminal Plazma IL-18 Düzeyinin Ölçülmesi	48
IV.4. İstatistiksel Analizler	48
VI. SONUÇLAR	49
VII. TARTIŞMA	53
VIII. KAYNAKLAR	61

I. ÖZET

Evlenen çiftlerin % 10-15 kadarı infertilite problemi ile karşılaşmaktadır. Bunların % 60 kadarından erkek faktörü sorumludur. Genital enfeksiyonlar fertilitiyi spermatogenezisin ve sperm fonksiyonunu bozarak ve seminal traktın obstrüksiyonu yoluyla etkileyebilmektedir. HPV ve Chlamydia trachomatis genital enfeksiyonlardan sorumlu ajanlar olup infertilite etyolojisinde de rol oynayabilmektedir.

Bu tez çalışmasında hastanemiz Üroloji polikliniğindeki olgularda HPV ve Chlamydia trachomatis'in prevelansını belirlemek ve bu etkenlerin seminal sıvı sitokinleri ile semen parametreleri üzerine olan etkilerini değerlendirmek amaçlandı.

2006 yılı içinde Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji polikliniğine semen analizi için başvuran başvuran tüm olgular değerlendirildi, 144 infertil, 31 fertil olgu çalışmaya dahil edildi. Semende Chlamydia trachomatis ve HPV varlığı Nucleospin Tissue Macharey-Nagel ekstraksiyon ticari kiti kullanılarak PCR ile, IL-18 ise ELISA (Biosource cat:KHC0181) kit ile çalışıldı.

HPV prevelansı (% 1.1, n=2), Chlamydia trachomatis prevelansı ise (% 8.6, n=15) olarak bulunmuştur. Fertil grup (%3.2, n=1) ve infertil grup (%0,7, n=1) arasındaki HPV pozitifliği farkı anlamlı değildi ($p > 0.05$). Benzer olarak fertil grupta (%9.7, n=3) ve infertil grupta (%8.3, n=12) saptanan Chlamydia trachomatis pozitifliği farkı da anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Olgular varikosel, oligospermi, astenospermi ve azospermi varlığına göre alt gruplarda değerlendirildiğinde HPV veya chlamydia pozitifliği açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). Tüm olgularda IL-18 ölçülebilir seviyelerdeydi ve 2,3 pg/ml ile 234,3 pg/ml arasında değişmekteydi (ortalama $40,25 \pm 38,18$). Fertil ($43,73 \pm 37,81$) ve infertil ($39,50 \pm 38,38$) grubun ortalama IL-18 değeri farkı anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Klamidya

pozitif hastaların IL-18 düzeyleri ve ortalama sperm sayı ve hareket değerleri karşılaştırıldığında kontrol gruba göre anlamlı fark saptanmadı ($p>0.05$).

Sonuç olarak ülkemizde yapılan bu ilk prevelans çalışması ile hastanemiz roloji kliniğindeki HPV ve Chlamydia trachomatis sıklığı ortaya konuldu. Chlamydia trachomatis varlığı ile sperm parametreleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığından, semende insidental olarak saptanan Chlamydia trachomatis'in infertilitenin bir nedeni olarak gösterilmemesi gerektiği düşünülmektedir. Yine bu çalışmada IL-18'in asemptomatik genital enfeksiyonların bir göstergesi olmadığı sonucuna varıldı. HPV'nin infertil olgularda semen parametreleri üzerindeki etkisini değerlendirebilmek için daha çok sayıda hasta ile çalışmalar yapılması gerektiği açıktır.

II. ABSTRACT

Infertility affects approximately 10-15% of couples. Roughly 60% of cases involve a male contribution or factor. Genital infections affect fertility by destroying spermatogenesis and sperm function or by obstructing seminal tract. HPV and Chlamydia trachomatis are two of the aetiologic agents of genital infections. They also have an influence on infertility.

In our study, we aimed to determine the prevalence of HPV and Chlamydia trachomatis positivity in patients that admitted to Urology polyclinic of Adnan Menderes University Hospital. And, we also aimed to investigate the effects of these microorganisms on semen parameters and the cytokine levels of seminal fluids.

All of the cases who admitted to our Urology polyclinic for semen analysis in 2006 were evaluated. 144 of the infertile cases and 31 fertile cases were included in our study. Chlamydia trachomatis and HPV positivity were investigated by using Nucleospin Tissue Macharey-Nagel extraction commercial kit with PCR and IL-18 level were measured using ELISA (Biosource cat:KHC0181) method in seminal fluid.

The prevalence of HPV positivity was determined as 1.1% (n=2), The prevalence of Chlamydia trachomatis was determined as 8.6% (n=15). However there was no significant difference in HPV positivity between fertile (%3.2, n=1) and the infertile group (%0.7, n=1) ($p > 0.05$). Likewise the difference of Chlamydia trachomatis positivity between fertile group (%9.7, n=3) and infertile group (%8.3, n=12) wasn't significant ($p > 0.05$).

When we evaluated the prevalence of Chlamydia trachomatis and HPV positivity in subgroups of varicocele, oligospermia, azospermia, asthenozoospermia

(occurrence), there were no statistically significant differences between subgroups ($p > 0.05$).

There were measurable levels of IL-18 in all cases. These levels were between 2,3 pg/ml ile 234,3 pg/ml (mean value $40,25 \pm 38,18$ pg/ml). The mean difference of IL-8 levels weren't significant between fertile ($43,73 \pm 37,81$) and infertile ($39,50 \pm 38,38$) group ($p > 0.05$). And when we compared the IL-18 levels and the mean value of sperm number and motility, there were no statistically difference between the patient of Chlamydia trachomatis positivity and control groups.

As a result, The prevalence of HPV and Chlamydia trachomatis positivity in Urology out patient clinic were determined by this first study that was made in our country. There were no statistically differences between the presence of Chlamydia trachomatis and sperm parameters. So, we think that incidentally determined Chlamydia trachomatis in semen doesn't indicate as cause of infertility.

Finally, this study also showed us that IL-18 level isn't a marker of asymptomatic genital infections. However, further large studies are needed to reveal the effects of HPV on semen parameters in infertile cases.

III. GİRİŞ

III.1 ERKEK İNFERTİLİTESİ

III.1.1. Tanımı ve Sıklığı

Evli çiftlerin istemelerine ve herhangi bir korunma yöntemi kullanmamalarına rağmen bir yıllık düzenli cinsel ilişki sonrası çocuk sahibi olamamaları primer infertilite olarak tanımlanır (1). Çiftlerin yaklaşık %15-20'si istemelerine karşın çocuk sahibi olamamaktadır. Bunların %33'ünde erkek faktörü tek başına sorumlu olarak bulunurken, %20'sinde erkek ve kadın faktörü birlikte bulunmaktadır. Bu nedenle erkek faktörü infertil çiftlerin en azından %50'sinden kısmen sorumludur (2,3).

İnfertilite nedeniyle incelenen çiftlerin %40'ında birden fazla etyolojik neden söz konusudur. Bunların yaklaşık %33'ünde iki, %7'sinde üç veya daha çok etken rol oynamaktadır (4). İnfertil çiftlerin %10-25'inde ise infertiliteye neden olabilecek herhangi bir patoloji bulunmamaktadır. Bu idiopatik infertil hasta grubunun etyolojisinde humoral ve hücrel otoimmünitenin, erkek genital sistem subklinik enfeksiyonlarının ve inflamatuvar olayların rol oynayabileceği bildirilmektedir (5-7).

III.1.2. İnfertilitede Enfeksiyon ve İnflamasyonun Yeri

Erkek infertil hasta grubunun yaklaşık dörtte birlik kısmını oluşturan idiopatik infertilitede genital sistem enfeksiyonlarının etkin olabileceği bildirilmektedir. Sperm fonksiyon bozukluğu, genital traktta obstruksiyon gibi patolojiler enfeksiyonların infertiliteye neden olacak olası sonuçlarıdır. Ancak yine de enfeksiyonların neden olacağı infertilite tedavi edilebilir infertilite patolojisi olarak kabul edilmektedir (8).

Maruyama ve arkadaşları büyük miktarlarda granülositin, zonasız hamster yumurtası penetrasyon testinde spermin fertilizasyon yeteneğini bozduğunu

göstermiş ve enfeksiyon ile infertilite arasında yakın bir bağlantı olduğunu bildirmişlerdir (9).

Enfeksiyonlar infertilite etyolojisinde çeşitli mekanizmalarla etkin olabilmektedir. Lökosit ürünlerinin sperm üzerinde toksik etkiler yaptığı, aktif makrofaj ve granülositlerden serbestleşen reaktif oksijen radikalleri, hidrojen peroksit ve reaktif azot bileşiklerinin sperm motilitesini bozduğu, fertilizasyon fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir (6). Ayrıca çeşitli stokinler, T lenfositlerden salgılanan interferon gama (IFN- γ) ve makrofajlardan salınan tümör nekrotizan faktörü (TNF) sperm motilitesini ve zonasız hamster yumurtası penetrasyonunu inhibe edebilmektedir (10, 11, 12). Lökositospermi ayrıca seminal protein yapısında değişikliklere yol açmaktadır. Bütün bu olaylar lökosit reaksiyonlarının tipine, derecesine ve sperm bunlara maruz kalış süresine göre değişebilmektedir (6). Sonuç olarak genitoüriner enfeksiyonlar erkek infertilitesinde genelde tedavi edilebilir etyolojik bir faktör olarak etkindirler (8).

III.1.3. İmmünolojik İnfertilite

İnfertil erkeklerin %3-7'sinde sperm antikorları rapor edilmiştir. Sperm immünizasyonu gelişen infertil erkeklerin çoğunda semen analizi normal bulunmasına karşın, spontan sperm aglütinasyonu ve motilite azlığı, immünolojik infertilite bulgusu olarak değerlendirilmektedir (13). Spermatogenezin testis içindeki oluşumundan başlayıp, ejakülasyonla meatus eksternus üretradan atılımına kadarki transport sürecinde karşı karşıya kaldığı çeşitli olumsuz etmenler immünolojik infertilite nedeni olabilmektedir. Spermatogenezin aktivasyonu ve olgun spermatozoaların ortaya çıkışı erkekte puberte döneminde başlar. İmmün sistem ise formasyonunu ve vücudun hemen bütün yapılarını tanıma işlevini çok öncesinden

tamamlar. Böylelikle de germinal hücreler vücudun bağışıklık sisteminden ayrı tutulurlar (14,15).

Ultrastrüktürel çalışmalar Sertoli hücreleri arasındaki özel bağlantı komplekslerinin seminifer epitelyumu, bazal kompartman ve luminal kompartman olarak böldüğünü göstermiştir. Sertoli hücreleri arasındaki bu sıkı bağlantılar seminifer epitelyum ile testis interstisyumu arasında bariyerler oluşmasına neden olarak kan-testis bariyerini meydana getirmiştir. Kan-testis bariyerinin mayoz bölünme sırasında germ hücrelerinin dış ortamdan korunması, erkek immün sistemi tarafından tanınmayan haploid gametlerin muhafaza edilmesi ve değişik ilaçların bariyerle korunan hücrelere geçişinde seçici olması gibi önemli fonksiyonları mevcuttur (16,17). Kan-testis bariyeri gibi etki eden bir başka anatomik oluşum ise kan-epididim bariyeridir. Epididimdeki silialı ve siliasız hücreler arsında da sıkı bağlantı kompleksleri vardır. Bu oluşumlar da gerek permeabilite gerekse immünolojik yönden önemlidir (13)

Vücuttaki immün cevabı ortaya koyan moleküller; 4 polipeptid zincirinden meydana gelen glikoprotein yapısındaki immünglobülinlerdir. İmmünolojik infertiliteye neden olabilecek immünglobülinler IgA, IgG ve IgM yapısındadırlar. IgG ve IgM serumda bulunurken IgA ve IgG seminal plazmada görülür. IgM üreme sistemi sekresyonlarında nadiren görüldüğünden erkek infertilitesinde rolü yoktur. Serum IgG'nin ancak %1'i genital sekresyonlara girebilir. Ancak seminal sıvıdaki IgG'lerin immünolojik infertilitenin göstergesi olabileceği bildirilmektedir. IgG'ler sistemik sperm antijenlerini stimule ederken lokal üreme sistemi antijenleri IgA'ların yapımını indükler. Erkeklerde antisperm antikorlar (ASA) serumda serbest olarak bulunabildikleri gibi seminal plazmada ve spermatozoa üzerine yapışmış olarak da

bulunurlar. İmmünolojik infertilitede asıl önemi olan antikorlar spermatozoa yüzeyine yapışan ASA'lardır (15,18).

Antisperm antikorlar etkilerini değişik şekillerde gösterebilmektedir. Bunlar:

a-Aglütinasyon: Spermatozoaların kümeler şeklinde bir araya gelmesidir. Bu kümeleşmeler spermatozoanın baş ve kuyruk kısımlarında özellikle belirgindir. Bu antijen-antikor kümeleşmesi kompleman bağımlı değildir.

b-İmmobilizasyon: Antisperm antikorların spermatozoadaki antijenlere bağlanması ve hareket kısıtlılığına yol açmasıdır. Kompleman bağımlıdır.

c-Sitotoksite: Spermatozoanın baş ve boyun kısmında şişme ve parçalanmaya rol açmasıdır. Kompleman bağımlıdır ve blastositler üzerine toksik etkilidir.

Antisperm antikorların erkek genital sistemi üzerinde iki türlü etkisi vardır:

1-Spermatozoa üzerine olan etkileri: Antisperm antikorlar spermatozoanın çeşitli bölgelerine yapışarak servikal mukus içinde ilerlemesini yavaşlatır. Ayrıca spermatozoadaki reseptörleri engelleyerek ovuma penetrasyonunu ve böylelikle de fertilizasyonu engeller.

2-Spermatogenez üzerine etkileri: Antisperm antikorlar özellikle blastositler üzerine olan sitotoksik etkileri ile seminifer tubulusların lümenlerini tahrip ederek spermatogenezi bozar. Spermatogenez üzerine olan bu olumsuz etki oligospermi veya azospermi nedeni olabilir.

Antisperm antikor oluşumuna neden olan faktörler ve birlikte görülen klinik durumlar aşağıda özetlenmiştir (15-17).

Antisperm Antikor Oluşumuna Neden Olan Faktörler

a- Obstruksiyonlar:

Vazektomi

Vas deferens veya vezikula seminalis agenezisi

Testis seviyesinde obstruksiyonlar

b- Enfeksiyonlar (orşit, prostatit, veneriyel hastalıklar....)

c- Termal etkiler:

Varikosel

İnmemiş testis

d- Fizik travmalar:

Testis biyopsisi

Testis travması

Testis torsiyonu

e- Testis kanseri

f- Genetik predispozisyon

Antisperm antikorlar dolaşımında, seminal plazmada veya direkt spermatozoa yüzeyinde bulunurlar. Antisperm antikora kanda yada spermde rastlanmasıyla ilgili değişik çalışmalar bulunmaktadır. Kanda ASA'ların varlığının infertilite tanısında klinik önemi olmadığı belirlenmiştir. Seminal plazma ASA'ları sperm yüzeyine yapışmadığından ve vaginada yeteri kadar ileri gidemediğinden klinik önemi çok azdır. İmmünolojik infertilite tanısında ejakülattan alınan canlı spermatozoalar üzerindeki immünglobülinlerin tesbiti gerekmektedir. Spermatozoa yüzeyindeki ASA'lar aglütinasyona veya motilitede bozulmaya yol açarlar (18).

Antisperm antikor tesbitinde son yıllarda en fazla önem kazanan yöntemler sperm yüzeyindeki antikorları gösteren testlerdir. Bunlar arasında Mixed antiglobulin reaction (MAR) ve Immunobead binding test (IBT) aynı zamanda antikorun sperme bağlanma yerini de gösterebildiklerinden büyük önem kazanmıştır. Radioimmunassay (RAI) ve flow cytometry yöntemleri ile de sperm yüzey

antikorları ölçülebilmektedir. Ancak, oldukça duyarlı olan bu testler antikor bağlanma yerini gösterememektedir (16,17,18).

MAR ve IBT testlerinde taze ve hareketli spermier kullanılır. Ek olarak, IBT’de spermierin önceden yıkanarak serbest antikorların uzaklaştırılması gerekmektedir. MAR testinde ise direkt olarak yıkanmamış spermierle çalışılmaktadır. Her iki test sperm yüzey antikorları (direkt test) yanında serum, servikal mukus ve seminal plazma gibi sıvılardaki antispermi antikorları da (indirekt test) ölçülebilmektedir (16, 19).

Antikor kaplanmış latex partikülleriyle geliştirilmiş MAR testinin IBT’den çeşitli üstünlükleri olduğu bildirilmektedir. Daha kolay uygulanışı yanı sıra, IBT’ye göre daha az hareketli sperm gerektirmesi ve daha duyarlı olması önemli avantajlarıdır. Ayrıca spermierle birleşmemiş partiküllerin kendi aralarında agglütine olmaları kullanılan reagentleri test içinde kontrolünü sağlamakta olup, bu özellik IBT testinde bulunmamaktadır (4, 17, 19).

III.1.4. İnfertilite ve Varikosel

Varikosel, testisleri drene eden pampiniform pleksusu oluşturan spermatik venlerin elongate ve dilate hal alması ve venöz dolaşımda ters akım (reflü) olması olarak tanımlanır (20,21).

İnfertiliteye yol açan düzeltilebilir patolojiler arasında ilk varikosel yer alır. Tüm erkek popülasyonu içinde sol varikosel insidansı %13,4 olarak bildirilmiştir. İnfertil hasta popülasyonu incelendiğinde ise bu oran %40’lara çıkmaktadır. Klinikte genellikle (%75-95 olguda) izole sol varikosel görülür. Bilateral varikosel sağlıklı genç erkeklerde çok nadir (%0-1), infertil hasta grubunda özellikle Doppler ultrasonografi kullanımından sonra %30-50 olguda görülebilmektedir (22).

Varikoselin fertilite üzerine olan etkileri tartışmalı bir konu olmayı sürdürmektedir. Magdar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada varikoseli bulunan infertil erkekler iki gruba ayrılmış; 1. grup hiçbir tedavi yapılmadan 12 ay süreyle izlenmiş ve 12 ayın sonunda gebelik oluşmamışsa ligasyon yapılmış ve hastalar 36 ay daha takip edilmiştir. İlk 12 aylık takip döneminde spontan gebelik oranı %10 iken, ligasyondan sonraki takip döneminde bu oran %66.7'e çıkmıştır. 2. grup varikoselli infertil hastalara ise hemen ligasyon yapılmış ve izlem boyunca bu grubun gebelik oranı %76 tesbit edilmiştir (23). Diğer çalışmalarda bildirilen gebelik oranları %24-60 arasındadır. Sonuç olarak varikoselektominin sperm parametrelerinde ve fertilite oranlarında belirgin iyileşme sağladığı kabul edilmektedir (24,25).

Yaygın olarak kabul edilen görüş varikoselli olgularda GnRH'a artmış gonodotropin cevabının olduğu ve varikoselektomi sonrası semen parametrelerindeki iyileşme ile beraber bu cevabın normalleştiği şeklindedir. Varikoselli olgularda hipotalamo-hipofizer-gonadal aksda bir takım değişikliklerin olduğu kabul edilmekte ise de bunun varikosele sekonder olup olmadığı bilinmemektedir (21,26).

Varikosele bağlı oluşan testiküler hasarı açıklamada pek çok farklı hipotez öne sürülmüştür. Hormonal fonksiyon bozukluğu, artmış yada azalmış testis kan akımı, hipoksi, sigara kullanımı, ısı artışı, renal ve adrenal metabolitlerin reflüsü varikosel patofizyolojisinde öne sürülen mekanizmalardan birkaçıdır (24, 25). Ancak varikosele bağlı oluşan testiküler disfonksiyonda en çok kabul gören iki teori ısı artışı ve reflüdür. Varikosele bağlı oluşan infertiliteyi bu mekanizmalardan sadece biri ile açıklamak mümkün olmayıp varikoseli olan hastalarda infertilite patogenezinde birden çok neden öne sürülmüştür. Bunlar:

1-Skrotal hipertermi: varikoselli, infertil olgularda skrotal ısıнын diğer gruba göre 0.6-0.8 °C daha fazla olduğu gösterilmiştir. Aynı şekilde, varikoseli olan hastalarda testis içerisindeki ısı da 0.78 °C daha yüksek bulunmuştur. Bunun yanı sıra, varikoselli olsun veya olmasın anormal spermatogenezin olduğu infertil erkeklerde skrotal ısıнын yüksek olduğu da bildirilmektedir. Skrotal hipertermi bugün için varikoselin spermatogenezi etkileme nedeni olarak en çok destek bulan teoridir.

2- Metabolit reflüsü: Renal vendeki kanın retrograd yolla testise ulaşması sonucu bu kandaki renal ve adrenal metabolitlerin testiste hasara ve spermatogenezde bozulmaya neden olabilecekleri düşünülmüştür. Bu görüşten hareketle yapılan çalışmalarda internal spermatik vende bir takım maddeler (katekolaminler, kortizol, serotonin, anjiotensin-1, fosfolipaz A2, prostoglandin E ve F2a, serbest oksijen radikalleri) ve bu maddelerin spermatogenez üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu maddelerden prostoglandin ve katekolaminlerin spermatogenezi inhibe ettiği bir takım deneysel çalışmalarda gösterilse de diğer metabolitler hakkındaki bilgiler çok kısıtlıdır.

3- Hipoksi, venöz staz, artmış hidrostatik basınç: Kan dolaşımının inefektif olması ve dolayısıyla intratestiküler konjesyon ve hipoksinin spermatogenezi azaltabileceği öne sürülmüş fakat yapılan çalışmalarda testiküler venöz oksijen basıncı, karbondioksit basıncı, pH değerleri açısından fertil-infertil erkeklerin bir farkının olmadığı bulunmuş ve sonuçta bu teorinin varikosel etkisini açıklayamayacağı bildirilmiştir (20,21,22,25).

III.2. ERKEK ÜREME FİZYOLOJİSİ

İnsan testisi çift fonksiyonlu bir organdır. Seminifer tübüllerde spermatogenez oluşur ve interstisyel dokudaki Leydig hücreleri steroid hormonları (androjenleri) salgılar. Bu testiküler fonksiyonlar yakın ilişki içindedir.

III.2.1. Hipotalamus-Hipofiz-Testis aksı

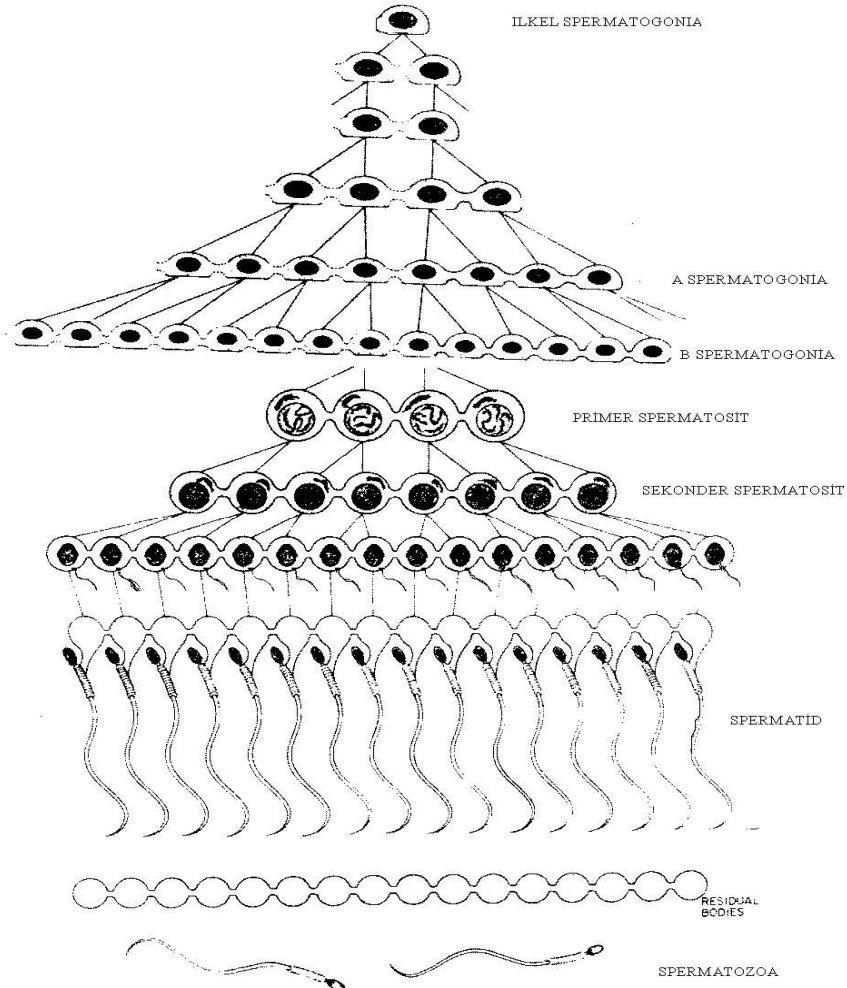
Normal seksüel ve reproduktif fonksiyonlar için sağlıklı işleyen bir hipotalamus-hipofiz-testis (HHT) aksı gereklidir. Erkeklerde seksüel gelişim ve seksüel devamlılığın sağlanması için androjenlere ihtiyaç vardır. Androjenler de HHT aksı ile regüle edilmektedir. Ayrıca, fertilizasyon için gerekli olan sperm matürasyonunun regülasyonu da bu aks aracılığı ile olmaktadır.

Hipotalamustan, peptid hormon yapısında olan gonodotropin relasing hormon (GnRH) aralıklarla salgılanır. Bu hormon kısa bir portal venöz sistemle hipofize taşınır. GnRH hipofize ulaştığında burada luteinize edici hormon (LH) ve folikül stimüle edici hormon (FSH) adında iki gonodotropik hormonun sentez ve salınımını uyarır. Bu iki hormon genel dolaşıma katılarak testislere ulaşırlar. Testislerde gonadal steroid sekresyonunu uyarırlar. LH testisteki Leydig hücrelerini uyararak normal spermatogenez için gereken testosteronun belli bir düzeye yükselmesini sağlar. FSH ise Sertoli hücrelerini uyararak spermatogenez düzenler ve devam ettirir (14, 27).

III.2.2. Spermatogenez

Spermatogenez ilkel kök hücrelerin yani spermatogoniaların bölünerek çoğaldığı (anahücrelerin yenilenmesi) veya daha sonra spermatositlere dönüşecek yavru hücreleri ürettiği karmaşık bir süreçtir. Farklılaşmamış spermatogoniaların en ilkel formları kök hücreleridir. Kök hücrelerinin sürekli yenilenmesini sağlamak için mitotik bölünmeden sonra ilkel kök hücreler, koyu tip A spermatogonialar (Ad) taze Ad hücreleri stoğuyla birlikte soluk tip A spermatogonialarını da (Ap) üretirler. Soluk tip A spermatogonialar mitotik bölünmeye uğrayarak tip B spermatogoniyadan preleptoten primer spermatositlere dönüşürler. Primer spermatositler mayoz bölünme ile ilk olgunlaşma evresinden geçerler ve kromozomların sayısını 46'dan 23'e

düşürürler. Her bir primer spermatosit 2 sekonder spermatosite ve bunların her biri de 2 spermatide bölünür. Spermatidler daha sonra spermiyogenez denilen bir süreçle spermatozoalara dönüşür (şekil 1). Bu dönüşüm çekirdek yoğunlaşmasını, stoplazmanın büyük bir kısmının kaybını, bir kuyruk gelişimini, spermin orta bölümüne mitokondriaların dizilmesini içerir. İlkel spermatogoniumdan olgunlaşmış bir spermin gelişmesine kadar geçen spermatojenik siklus yaklaşık 74 gün sürer (14,27).



Şekil 1. Spermatogenezin basamakları

III.3. ERKEK İNFERTİLİTESİNİN NEDENLERİ

Erkek infertilitesi etiyolojik olarak çeşitli şekillerde sınıflandırılmasına rağmen, en sık kabul gören sınıflama pretestiküler, testiküler ve posttestiküler olarak yapılan sınıflamadır (1-4).

III.3.1. Pretestiküler Nedenler

Pretestiküler infertilite nedenleri genellikle endokrinolojik patolojiler sonucu ortaya çıkan ve tedavi edilebilir infertilite patolojileridir. Hipotalamusta Kalman sendromu, izole FSH, LH yetmezliği gibi patolojiler yanında, hipofizle ilgili; hipofizer yetmezlik, hiperprolaktinemi gibi patolojiler pretestiküler infertilite sebepleridir. Erkek infertilitesinin pretestiküler nedenleri aşağıda özetlenmiştir.

Erkek infertilitesinin pretestiküler nedenleri

Hipotalamik Hastalıklar

İzole gonadotropin yetmezliği (Kallmann sendromu)

İzole LH yetmezliği (Fertil önükoid sendrom)

İzole FSH yetmezliği

Doğumsal hipogonadotropik sendromlar

Hipofizer Hastalıklar

Hipofiz yetmezliği

Hiperprolaktinemi

Hemokromatozis

Eksojen hormonlar

III.3.2. Testiküler Nedenler

Testiküler infertilite nedenleri genellikle erkek infertilitesinde zor tedavi edilebilir patolojilerdir. Erkek infertilitesinin testiküler nedenleri aşağıda özetlenmiştir (1-4).

Erkek infertilitesinin testiküler nedenleri

Kromozom anomalileri

Myotonik distrofi

Sertoli Cell Only Sendromu (Germ Hücre Aplazisi)

Bilateral anorşi

İnmemiş testis

Orşit

Travma

Varikozel

Gonadotoksinler (Kemoterapi, İlaçlar)

Sistemik hastalıklar

Defektif androjen sentezi veya aktivitesi

Radyasyon

İdyopatik infertilite

III.3.3. Posttestiküler Nedenler

Posttestiküler infertilite patolojileri ise; pretestiküler patolojiler gibi genellikle tedavi edilebilir ve obstrüktif patolojilerdir. Erkek infertilitesinin başlıca posttestiküler nedenleri aşağıda özetlenmiştir (1-4).

Erkek İnfertilitesinin Posttestiküler Nedenleri

Sperm iletim bozuklukları

Konjenital bozukluklar

Edinsel bozukluklar

Fonksiyonel bozukluklar

Sperm motilite ve fonksiyon bozuklukları

Sperm kuyruğunun konjenital defektleri

Olgunlaşma defektleri
İmmünolojik defektler
Cinsel disfonksiyon ve koital faktörler
Enfeksiyon

III.4. CHLAMYDIA TRACHOMATIS

III.4.1. Genel Özellikleri

III.4.1.1. Sınıflama

Klamidyalar, chlamydiales takımı altında incelenen chlamydiaceae ailesi kapsamındaki tek cins olan chlamydia cinsinde yer alır.

Metabolik enerji üretimi sağlayan mekanizmalardan yoksundurlar. Bu nedenle ATP oluşturamazlar. Zorunlu hücre içi yaşarlar. Gram olumsuz prokaryotik mikroorganizmalardır. Virüslerden farklı olarak hem RNA hem DNA içerirler, ortadan 2'ye bölünerek çoğalırlar, ribozom içerirler, çeşitli antibiyotiklere duyarlıdırlar. Lipopolisakkarid ve çeşitli membran proteinlerinden oluşmuş iç ve dış membranları vardır. Buna karşın prokaryotların çoğunda iç ve dış membranlar arasında yer alan ve yapılarındaki rijiditeyi ve osmatik stabiliteyi sağlayan klasik peptidoglikan tabaka, klamidyalarda bulunmamaktadır (28-32).

Klamidyalar, Chlamydia trachomatis, Chlamydia psittaci, Chlamydia pneumoniae, Chlamydia pecorum olarak 4 tür altında incelenirler. Chlamydia pecorum dışındaki türlerin hepsi insanlarda hastalık oluştururlar. Klamidya türleri arasında Chlamydia trachomatis (CT) yol açtığı trahom ve cinsel yolla bulaşan hastalıklar nedeniyle üzerinde en çok çalışılan tür olmuştur. CT türü içinde 3 biyovar yer almaktadır. Trahom biyovarı okulogenital hastalık ile ilişkili olup 12 köken içermektedir. Lenfogradüloz biyovarı birbirinden farklı 3 kökene (L1, L2, L3)

sahiptir. Üçüncü biyovar olan fare pnömoni etkeni ise insanda hastalığa neden olmaz.(29,30,33,34).

CT'in mikroimmünflorösan (MİF) yöntemle belirlenen antijenik yapılarına bakılarak 15 farklı serovarı belirlenmiştir. A, B, Ba veC serovarları oküler trahom, D-K arası serovarlar genital enfeksiyonlar ve inklüzyon konjuktiviti, L1, L2, L3 serovarları ise LGV ile ilişkilidirler.

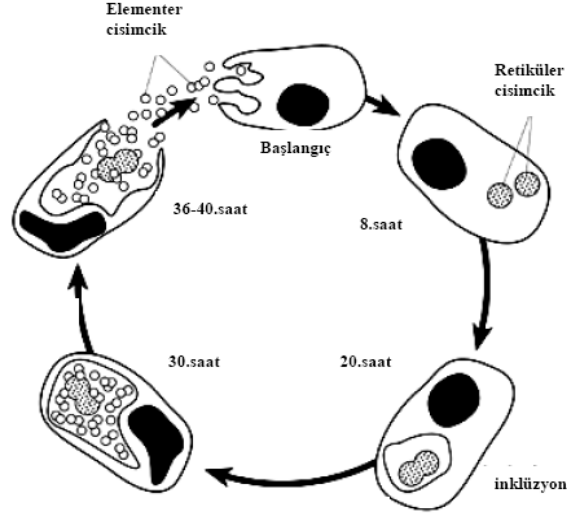
Klamidya türlerinin hepsi ortak bir grup antijeni (Lipopolisakkarit = LPS) içerir ve kendilerine özgü bir gelişim döngüsü sergileyerek yerleştikleri konak hücrenin stoplazmasında çoğalırlar.

III.4.1.2 Yaşam Döngüsü

Klamidyaların yaşam döngüsü hücre dışı yapı olan 350 nm. çapındaki elemanter cismin (EC) duyarlı bir epitel hücrelerine tutunması ile başlar. Tutunma işleminin ardından, elemanter cisim endositoz yada pinositoz yolu ile hücre içine alınarak, çevresi hücre membranından ibaret bir vakuol ile sarılır ve inklüzyon cismi (İC) adı verilen yapı ortaya çıkar. Böylece hücre içine alınan enfeksiyöz partiküllerin hücreye ait lizozomlar ile füzyon oluşturmaları ve yıkıma uğramaları engellenmiş olur.

İnklüzyon içindeki elemanter cisimler daha sonra 800-1000 nm. çapındaki retiküler cisimlere (RC) dönüşürler. Retiküler cisimler ikiye bölünerek hızla çoğalırlar. Çoğalma işlemi sırasında klamidyalara konak hücreden yüksek enerjili fosfat bileşikleri ile bazı aminoasitleri edinirler ve bu nedenle “enerji parazitleri” olarak da adlandırılırlar. Retiküler cisimler enfeksiyöz değildir ve bir süre sonra yeniden elemanter cisimlere dönüşmeye başlarlar. Hücre içinde yeniden oluşan elemanter cisimlerin hücre dışına çıkışları, hücrenin lizisi, inklüzyonların

salıverilmesi ya da ekzositoz benzeri mekanizmalarla olmakta ve elementer cisimlerin yeni hücreleri enfekte etmeleri ile infeksiyon yayılmaktadır (28,29,35)



Şekil 2. *Chlamydia trachomatis*'in yaşam siklusu.

III.4.2. Patogenez

CT'in enfekte ettiği hücreler genellikle mukozaları döşeyen epitel hücreleri olmaktadır. LGV biyovarı derideki sıyrıklardan yada genital bölge mukozasından vücuda girer ve lenfatik drenaj ile bölgesel lenf bezlerine taşınarak mononükleer fagositler içinde çoğalır. Karakteristik histopatolojik bulgu, daha sonra nekroze yada süpüre olan küçük abselerin ve granülomların oluşumudur. Trohom biyovarının hedef hücreleri konjunktiva, üretra ve rektum hücreleri ile, kadında endoserviks ve üst genital sistemdeki skuamokolumnar epitelyum hücreleridir. Erkeklerde epididim ve prostat, çocuklarda solunum yollarının epitel hücrelerini de tutulabilir.

Komplike olmamış hücre içi gelişim döngüsünde, klamidyalardan enfeksiyöz yapısı olan EC'lerin hücre içinde etrafının vakuolle çevrilmesi, bu yapının fagolizozomal füzyondan kaçabilmesini sağlar. Vakuol içinde bakterinin iskeletini oluşturacak elemanların yanı sıra, golgi apereyinde işlenen lipidler birikmeye başlar

ve birincil farklılaşma ile mevcut EC'ler RC'lere dönüşürler. Daha sonra ikiye bölünerek çoğalma ve ardından ikincil farklılaşma ile tekrar EC'lerin oluşumu ve hücre dışına salınımı gerçekleşir.

Trahomda görülen patolojik değişiklikler ile üst genital sistem infeksiyonları gecikmiş tipte aşırı duyarlılık yanıtlarının rolünü düşündürmektedir. Primer göz ve genital sistem infeksiyonları az ya da hiç doku hasarı olmadan iyileşirse de, yineleyen infeksiyonlar, hem bağışık yanıtların sürekli uyarılması, hem de persistan infeksiyon sırasında stres proteinlerinin oluşması sonucunda yoğun yangısal yanıt ve doku zedelenmesine yol açarlar (36,37).

III.4.3. Genital sistem infeksiyonları

Günümüzde CT'in non-LGV serotipleri ile cinsel yünden aktif erkeklerde ve kadınlarda oluşturduğu genital infeksiyonlar cinsel yolla bulaşan bakteriyel hastalıklar arasında birinci sırayı almaktadır. 1970'li yıllardan önce bildirimi en fazla olan cinsel yolla bulaşan bakteriyel hastalık gonore iken, son yıllarda klamidyal infeksiyonların prevalansı belirgin bir artış göstermiştir. *N. gonorrhoeae* ile enfekte olan kişilerin çoğu semptomatik olduğundan acil tıbbi yardım alabilmekte, buna karşılık CT infeksiyonlarının çoğunluğu belirtisiz seyretmekte ve taramalar sırasında saptanmaktadır. Yeni edinilmiş bir gonokoksik infeksiyonun, klamidyal infeksiyonu reaktifte ettiği ya da konağı klamidyalara karşı duyarlı hale getirdiği düşünülmektedir (36).

CT infeksiyonlarının görülme sıklığı toplumlara göre farklılıklar göstermekle birlikte, cinsel aktivite gösteren erkeklerin ortalama %0-11'inde, kadınların %0-26'sında görülmektedir. Erkeklerde nongonokoksik üretritlerin (NGÜ) %20-60'ından, postgonokoksik üretritlerin (PGÜ) %30-60'ından sorumlu tutulmakta, cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) kliniklerine başvuran kadınların %50'sinde,

salpenjiti olanların ise %70'inde etken olarak saptanmaktadır. Kadınlarda ve erkeklerde gonore ile birlikte bulunma olasılığı yüksektir. Kadınlardaki enfeksiyonlar sadece sıklık açısından değil, oluşturduğu komplikasyonlar bakımından da önemlidir. Enfekte kadınlar, hastalığın çoğu kez belirsiz seyretmesi nedeniyle toplumda saklı kalmakta ve enfeksiyonun rezervuarını oluşturmaktadırlar (36,38,39,40,41).

III.4.4. Klinik Belirtiler ve Bulgular

CT'in neden olduğu enfeksiyonlar

- 1) Göz enfeksiyonları (trahom, erişkin konjunktiviti, yenidoğan konjunktiviti)
- 2) Genital enfeksiyonlar (LGV ve non-LGV serovarları ile olan)
- 3) Yenidoğan solunum yolu enfeksiyonları olmak üzere üç grupta incelenebilir.

III.4.5. Non-LGV suşlar ile oluşan genital enfeksiyonlar

CT'in D-K arasındaki serovarları, cinsel yönden aktif olan kadın ve erkeklerde farklı klinik tablolara yol açarlar.

III.4.5.1. Erkeklerde görülen enfeksiyonlar

Erkeklerde CT'e bağlı olarak gelişen genital enfeksiyonları nongonokoksik ve postgonokoksik üretrit (NGÜ, PGÜ), epididimit, prostatit, proktit, proktokolit ve reaktif artrit olarak sıralayabiliriz.

Erkeklerde asemptomatik enfeksiyonlar sık görülmekle birlikte, semptomatik NGÜ'lerin %30-50'sinden, PGÜ'lerin daha büyük bir bölümünden CT sorumludur. Ayrıca, gonokoksik üretriti olan erkeklerin de %20 kadarında CT izole edilmektedir. Her iki etkenle birlikte enfekte olan erkeklerde, genellikle gonore tek doz sağaltım rejimleri ile sağaltılmakta, ancak bunlarda daha sonra postgonokoksik üretrit gelişmektedir. Semptomatik klamidyal üretritte kuluçka süresi 7-14 gün arasındadır.

Hastalarda çoğu kez beyaz veya gri renkte bazen tamamen renksiz bir üretral akıntı ve dizüri başlıca yakınmalardır. Bunlara ek olarak, idrarını tutamama , kaşıntı ve ağrılı cinsel ilişkide görülebilir. Bu belirtiler tıbbi yardım aramayı gerektirmeyecek kadar hafif olabilirler. Sabah ilk idrara çıkmadan önce üretradan gelen akıntıda gram boyama ile her sahada 4 ve daha fazla veya ilk idrar sedimentinde 15'in üzerinde polimorf nüveli lökosit görülmesi ile üretrit tanısı, daha sonra gonorenin dışlanması ile de nongonokoksik üretrit tanısı gerçekleşir. Tedavi görmeyen olgularda belirtiler 1-3 ay arasında spontan olarak geçerlerse de, böyle kişilerin ne kadar süre ile bulaştırıcı kaldıkları bilinmemektedir.

PGÜ, akut gonore sağaltımından bir süre sonra yineleyen benzer görüntülerle kendini gösterir. Klamidyal üretrit erkeklerdeki birincil komplikasyonları; epididimit, reiter sendromunu da içine alan reaktif artrit ve cinsel ilişki ile kadınlara olan bulaşlardır.

CT 35 yaş altı erkeklerde epididimitin önde gelen nedenidir. Hastalarda çoğu kez üretrit de bulunur, ancak üretrit tanısının saptanamaması CT'yi dışlamaya yeterli değildir. Klamidyalara bağlı epididimit genellikle tek taraflıdır ve skrotal ağrı, duyarlılık, şişme ve ateş yüksekliği ile karakterizedir. Hastalığın akut döneminde oligospermi olabilirse de bu durumun infertiliteye yol açıp açmadığı kesinlik kazanmamıştır. Klamidyaların prostatit etiyolojisindeki rolleri tartışmalı olup, bu konudaki genel görüş, klamidyaların başka nedenlerle enfekte olmuş prostata yerleştikleri şeklindedir.

Bebek ve erişkinlerde CT'in asemptomatik rektal taşıyıcılığı görülebilirse de, özellikle homoseksüel erkeklerde proktit ve proktokolitlere yol açması sık karşılaşılan bir durumdur. Etken, anal cinsel ilişki ile doğrudan rektuma inokülasyon yoluyla bulaşır. Başlıca belirtiler, rektal ağrı, mukopürülan rektal akıntı, anal kaşıntı,

tenezm ve bazen de rektal kanamadır. Rektoskobik incelemede, rektum mukozasının eritemli ve kolay kanayan özellikte olduğu görülür. İlerlemiş olgularda bu bulgulara ülserler, granülomlar ve kriptik abseler eklenir. Hastalığın geç döneminde, fibröz dokunun oluşması ile yapışıklıklar ve darlıklar, lenfatik drenajın engellenmesi sonucunda hemaroidleri andıran lenfatik doku birikimleri ortaya çıkar. Sağaltım görmeyen kişilerde ayrıca, perirektal abse, rektovezikal fistül gibi komplikasyonlar gelişebilir. Hastalık, klinik ve histolojik benzerlikler nedeniyle iltahabi barsak hastalıkları ile karışabilir (36,39,41,42).

Klamidyaların reaktif artritleri en çok tetikleyen etkenler oldukları düşünülmektedir. NGÜ'ü olan erkeklerin yaklaşık %1'inde akut aseptik artrit sendromu görülmekte ve bunların da üçte birinde reiter sendromunun tüm belirtileri gözlenmektedir. Reiter sendromu gelişen hastaların %80 kadarı HLA-B27 doku uygunluk antijenine sahiptir. Üretriti olan sağaltım görmemiş reiter sendromlu erkeklerin %69'unda etkeni üretradan izole etmek mümkün olmaktadır. Reiter sendromlu hastaların sinoviyal sıvılarında ve serum örneklerinde yüksek düzeyde antiklamidyal antikorlar (özellikle HSP60'a karşı) saptanmasına karşın, etkenin sinoviyal sıvıdan veya membranlardan, gelişmiş doku kültürü teknikleri kullanılarak bile izole edilmeleri mümkün olmamaktadır. Böyle hastalarda elektron mikroskopisi, immünohistokimyasal boyama, hibridizasyon ve amplifikasyon yöntemleri ile etkenin varlığını göstermek olanaklıdır. Klamidyalarla ilişkili reaktif artrit ya da reiter sendromu olan hastalar, antiklamidyal antibiyotiklerle sağaltıldıklarında, sağaltım görmeyen veya penisilinle sağaltılan gruplarla karşılaştırıldığında, artrit relapslarının insidansında belirgin bir düşüş olduğu gözlenmiştir (36,43,44).

III.4.5.2. Kadınlarda görülen enfeksiyonlar

Kadınlarda CT'in yol açtığı genital enfeksiyonlar, yalnızca sıklıkları açısından değil, aynı zamanda hastalığın sonuçları açısından da önem taşımaktadır. Enfeksiyon için risk faktörleri toplumlara göre değişmekle birlikte, gonokoksik veya nongonokoksik üretriti olan bir erkeğin eşi olmak bu faktörlerin başında gelmektedir. Ayrıca, genç yaş, bekar yaşam, çok eşlilik, erken yaşta cinsel yaşama başlanması, düşük sosyoekonomik seviye ve oral kontraseptif kullanımı da önemli risk faktörleri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Kadınlarda CT ile oluşan endoservikal enfeksiyonun doğal seyri bilinmemektedir. Deneysel çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre, enfekte olan kadınların bir kısmında organizmanın vücuttan eradike edilebildiği, ancak pek çoğunda uzun süre genital sistemde varlığını sürdürebildiği bildirilmektedir. LGV'li bir olguda enfeksiyondan 20 yıl sonra etkenin izole edilebilmesi, reiter sendromlu olgularda sinoviyada etkenin persistans göstermesi, infertil kadınlarda fallop tüplerinden alınan biyopsilerde klamidyal DNA'nın saptanması bu duruma uyan örneklerdir.

Endoservikal enfeksiyonu olan kadınların %70 kadarı ya asemptomatiktir ya da vajinal akıntı, kanama, abdominal ağrı ve dizüri gibi yakınmalarla başvururlar. CT erişkin kadınlarda servikal kolumnar epitel hücrelerini enfekte eder. Vajinit ancak puberta öncesi kızlarda görülebilir. Akut üretral sendrom ise dizüri, pollaküri gibi belirtilerin yanısıra pyüri ile kendini gösterir. CT ayrıca bartoliniti olan kadınların bartolin bezlerinden de izole edilebilir.

Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarına göre, CT'in servikal skuamöz hücreli karsinom ile ilişkili olduğu ve bazı klamidya serotiplerinin kanser gelişiminde daha özgül bir rol oynadığı anlaşılmıştır. CT'in konağın bağışıklık

sistemini bozarak kanser gelişimini kolaylaştırdığı ileri sürülmektedir. Klamidyalının over kanseri, akciğer kanseri ve lenfomalar ile ilişkisi ise henüz araştırılmaktadır (45).

Endoservikal CT enfeksiyonu olan ve sağaltımsız bırakılan kadınların %40 kadarında enfeksiyon üst genital yollara yayılarak önce endometrit, daha sonra pelvik yangısal hastalığa (PYH) yol açar. Pelvik hastalığın spektrumu, perihepatit ve asitin olduğu akut, ciddi hastalık tablosundan asemptomatik (sessiz) hastalık tablosuna kadar değişen şekillerde olabilir. Subklinik seyreden ve bu nedenle tanı konulamayan salpenjit olguları akut olgulardan çok daha fazla sayıdadır. Klamidyal salpenjit, gonokoksik salpenjit ile karşılaştırıldığında daha subakut bir seyre sahip olmakla birlikte, laparoskopik incelemede tubalarda daha şiddetli bir yangısal reaksiyon olduğu görülür (46,47).

Akut yada subklinik PYH'nın uzun dönem komplikasyonları; tubal infertilite, ektopik gebelik ve kronik pelvik ağrılardır. Gelişmiş ülkelerde her altı çiftten birinde infertilite sorunu bulunmakta ve bunların da %10-30'u tubal faktöre bağlanmaktadır. Persistan ve yineleyen klamidyal enfeksiyonlar sırasında oluşan kronik yangı ve nedbe dokusu ile peritubal adezyonların tubalarda (tek veya çift taraflı) tıkanmaya yol açtığı bilinmektedir. Tubalardaki hasara bağlı olarak infertil hale gelmiş kadınların pek çoğu geçirilmiş bir klamidyal enfeksiyondan ya da PYH'dan habersizdirler. Bu hastalarda, mikrotübüloplasti sırasında alınan biyopsilerden CT izole edilebilmekte, ayrıca in situ hibridizasyon tekniği ile klamidyal DNA ve antijenler gösterilebilmektedir. Yine bu hastalarda, serolojik olarak antiklamidyal antikorların gösterilmesi de geçirilmiş klamidyal enfeksiyonu desteklemektedir (46-48).

Gebe kadınlardaki yineleyen spontan abortuslar ile geçirilmiş yada persistan klamidyal infeksiyonlar arasında bir ilişki olabileceği düşünülmektedir. Gebelikte karşılaşılan olumsuzluklarla klamidyal infeksiyonların ilişkilendirilemediği çalışmalara karşın, antiklamidyal IgM cinsi antikorları bulunan kadınların, bulunmayanlara göre daha fazla sıklıkta düşük doğum ağırlıklı bebek dünyaya getirdiklerini gösteren çalışmalar da vardır. Klamidyal infeksiyonlar prematüre ve erken membran rüptürü ile de ilişkili bulunmuşlardır. Gebelik sırasında klamidyal infeksiyonlarının sağaltımlarının, hem gebeliğin sonuçları üzerine olumlu etki yapacağı, hem de yenidoğan infeksiyonlarının gelişimini önleyeceği ileri sürülmektedir (36, 49,50).

III.4.6. Tanı

Tanı yöntemleri:

1) Özgül yöntemler: Sitolojik inceleme, hücre kültüründe izolasyon, antijen arama, nükleik asit arama, seroloji

2) Özgül olmayan yöntemler: Lökosit esterase testi ve diğerleri olarak iki başlık altında inceleyebiliriz.

III.4.6.1. Özgül Yöntemler

III.4.6.1.1. Sitolojik inceleme

Yenidoğan konjunktiviti ve trahomda, konjunktivadan alınan hücre kazıntı örneklerinden yapılan ve giemsa ile boyanan preparatlarda tipik intrastoplazmik inklüzyonların görülmesi ile tanı konabilir. Hafif hastalık tablosu olan hastalarda duyarlı bir yöntem olmamakla birlikte, laboratuvar olanaklarının kısıtlı olduğu bölgelerde, özellikle gonokoksik konjunktivitlerle ayırıcı tanıda kullanılabilir. Günümüzde bu yöntemin kullanımı, yorumunun zor olması, ayrıca duyarlılık ve özgüllüğünün düşük olması gibi nedenlere bağlı olarak son derece sınırlıdır (36,51).

III.4.6.1.2. Hücre kültüründe izolasyon

CT infeksiyonlarının tanısında kullanılan en güvenilir ve duyarlılığı en yüksek olan yöntemdir. CT doku kültürleri ile sürdürülebilen çeşitli hücre dizilerinde üreyebilmektedir. Bunlar arasında en çok kullanılanlar Mc Coy ve HeLa hücreleridir. Hücreler 12 mm çapındaki lameller üzerinde yada polistren mikropalakların çukur yüzeylerinde üretilirler. Kullanılan hücre dizisi ve üreyen biyovara göre değişmekle birlikte, kuluçka dönemi 40-72 saat arasındadır. Daha sonra Giemsa, Gimenez, Macchiavellos gibi boyalar yada bunlardan çok daha duyarlı ve özgül bir yöntem olan immünofloresan boyama yöntemi kullanılarak, hücreler içinde intrasitoplazmik inklüzyon cisimlerinin varlığı araştırılır.

Hücre kültürünün duyarlılık ve özgüllüğü teorik olarak %100 olmamakla birlikte, yöntemin uygulanmasında uyulması gereken kurallar yerine getirilmediğinde bu oran %50'lere düşebilmektedir (51,52).

III.4.6.1.3. Antijen arama

Hücre kültürünün teknik yada mali olanaksızlıklar nedeniyle uygulanamadığı durumlarda alternatif olarak kullanılabilir bir yöntemdir. Bu yöntemin kullanıldığı iki ticari test mevcuttur. Bunlardan biri olan direkt immünofloresan (DİF) testinde örnek, floresanla işaretlenmiş monoklonal antikorlar ile karıştırılır ve daha sonra floresan mikroskobunda elamenter cisimlerin varlığı yönünden araştırılır. DİF testi, duyarlılık ve özgüllüğünün %90'ın üzerinde olması, ayrıca alınan örneğin yeterliliğinin değerlendirilebilmesi, kısa sürede sonuç vermesi, uygulama kolaylığı gibi nedenlerle birçok laboratuvarı tercih edilmektedir (51,53).

Bir diğer antijen arama testi ise, enzimle işaretli immün deney (enzymeimmünoassay=EİA)'dir. Bu testin duyarlılık ve özgüllüğü DİF testine göre

daha düşüktür, ancak çok sayıda örnekle çalışılmasına olanak sağladığından iş yükü fazla olan laboratuvarlarca tercih edilebilmektedir(51).

III.4.6.1.4. Nükleik asit arama

CT infeksiyonlarının tanısında kullanılan ve örnekte etkene ait nükleik asidin araştırıldığı hibridizasyon, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), ligaz zincir reaksiyonu (LCR) ve transkripsiyon esaslı amplifikasyon (transcription mediated amplification=TMA) duyarlılık ve özgüllükleri son derece yüksek olan yöntemlerdir. Hibridizasyon tekniği maliyetinin yüksek olması, ayrıca işlem sırasında radyoaktif problemlerin kullanılması gibi olumsuz özellikleri nedeniyle rutin olarak kullanılan bir yöntem değildir. Ancak son yıllarda, radyoaktif olmayan problemlerin kullanıldığı kitlerle hücre kültürünün karşılaştırıldığı çalışmalar yapılmaktadır (51).

PCR, LCR ve TMA testlerinin duyarlılıklarının hücre kültürününkinden daha yüksek, özgüllüklerinin de hemen hemen eşit olduğu saptanmıştır. Hücre kültürü yönteminin dezavantajları da düşünülerek, günümüzde amplifikasyon yöntemleri klamidyal infeksiyonların tanısı ile uğraşan laboratuvarlarda referans yöntem olarak kabul edilmektedirler. Ayrıca idrar, vajinal ve vulver sürüntü örnekleri kullanıldığında da duyarlılıklarının yüksek bulunması, klamidyal infeksiyonların noninvaziv yöntemlerle tanınabilmesine olanak sağlamıştır. PCR tekniği ayrıca, CT serovarlarının belirlenmesi, Chlamidya türlerinin ayrılması ve sağaltımın izlenmesi gibi amaçlar için de kullanılabilir (51,54,55,56).

III.4.6.1.5. Seroloji

CT infeksiyonlarının tanısında serolojik yöntemlerin yeri kısıtlıdır. Serolojik testlerle elde edilen pozitiflikler genellikle geçirilmiş infeksiyonların varlığını yansıtır, akut olarak geçirilen infeksiyonun tanısında yarar sağlamazlar. Ancak, infeksiyonun başlangıcında ve 3-4 hafta sonra alınan serum örneklerinde antikor

titreleri arasında dört kat artışın saptandığı durumlarda aktif infeksiyon tanısı konabilir (36,51,57).

Erişkinlerin non-LGV suşlar ile oluşan genital sistem infeksiyonlarında antiklamidyal IgM ve IgG antikorlarının akut infeksiyon tanısında değeri bulunmamaktadır. Son zamanlarda IgA tipi antikorların aktif hastalık tanısında değerli olabilecekleri belirtilmekteyse de, duyarlılık, özgüllük ve prediktif değerlerin yeterince yüksek bulunmamış olması nedeniyle klinik yararı kesinlik kazanmamıştır.

CT infeksiyonlarının serolojik tanısında kullanılan diğer yöntemler EİA ve indirekt floresan antikor testi (İFAT)'dir. Bu testler daha çok seroepidemiolojik çalışmalarda tercih edilmektedirler (51).

III.4.6.2. Özgül olmayan yöntemler

CT ile gelişen üretritlerin özgül olmayan tanısında lökosit esteraz testi kullanılabilir. Bu yöntemle, idrarda bulunan ve polimorf nüveli lökositlerin oluşturduğu lökosit esterazın saptanması olasıdır. Test, üretrit tanısında özgül olmakla birlikte, etkenlerin ayırımında yarar sağlamaz. Lökosit esteraz testi yaşları 16-35 arasında değişen genç ve asemptomik hasta gruplarında EİA ve LCR testleri ile karşılaştırıldığında, oldukça güvenilir sonuçlar elde edilmiştir. Testin pozitif bulunduğu olgularda etken ayırımı için ileri tanı testlerine gereksinim vardır. Maliyet-yarar analizleri yapıldığında, ilk basamakta lökosit esteraz testinin uygulanmasının, negatif bulunan hastalarda gereksiz özgül testlerin yapılmasını önlediği ve böylece tanıda maliyeti düşürdüğü belirtilmektedir (51,58).

Tablo1: Chlamydia Trachomatis tanısında kullanılan yöntemler

	NÜKLEİK ASİT ÇOĞALTMA YÖNTEMLERİ	HÜCRE KÜLTÜRÜ	DİREKT FLORESAN ANTİKOR TESTİ (DFA)	ENZİM İMMUN ASSAY (EIA)	NUCLEİC ACİD PROBE
Test	Ligase Chain Rection (LCR) -LCx CT Test (Abbott) Polymerase Chain Reaction (PCR) Amplicor CT Test (Roche) Transcription Mediated Amplification (TMA) amplified CT assay APPTIAMA (Gen-Probe) Strand Displacement Amplification (SDA) -BD Probe Tec (Becton Dickinson)				PACE II (Gen-probe)
Tercih edilen test	Evet	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Örnek	Erkek ve kadın idrar, endoservikal ve üretral sürüntü örnekleri	Endoservikal, üretral, rektal, konjonktival, pulmoner	Endoservikal, üretral, rektal, konjonktival, nazofaringeal	Endoservikal, üretral, konjonktival	Endoservikal, üretral, konjonktival
Duyarlılık	%90-95	%75-85	%70-75	%50-75	%65-75
Özgüllük	%98-100	%100	%95-99	%95-99	%95-99
Avantajlar	Çok duyarlı Bazı testler için; Taşınma sırasında soğutmaya gerek yok, klamidy ve gonore için tek örnek yeterli	Hukuki konularda tercih edilen yöntem	Örneğin kalitesi test edilebilir, taşıma sırasında soğutmaya gerek yok	Kullanımı kolay, taşıma sırasında soğutmaya gerek yok	Yarı otomatize, klamidy ve gonore için tek örnek yeterli, taşıma sırasında soğutmaya gerek yok
Dezavantajlar	Kontaminasyon riski yüksek, pahalı	Az duyarlı, testin işlem zamanı uzun, teknik olarak zor, örnek taşınması ve saklanması a ısı kritik olarak önemli, tecrübeli teknik eleman ihtiyacı	Az duyarlı, tecrübeli teknik eleman ihtiyacı	Az duyarlı, doğrulama testine ihtiyaç	Az duyarlı, doğrulama testine ihtiyaç

III.5. HUMAN PAPİLLOMA VİRUSLAR

III.5.1. Etyoloji ve Patogenez

Human papilloma virusları (HPV) papavaviridae ailesinde yer alan 50-55 nm büyüklüğünde ikozahedral kapsid içeren çıplak DNA viruslarıdır. Aynı ailedeki

polyoma viruslar papillomaviruslar ile ortak morfolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri paylaşırlar. Papillomavirus genomu 8.000 bazçifti büyüklüğünde çift iplikli çembersel DNA içerir. HPV tipleri arasında çok sayıda değişkenlik olmasına karşın genom organizasyonları hemen hemen aynıdır. Viral genom fonksiyonel olarak 2 bölgeye ayrılır. Bunlardan birinci bölge erken (E) genlerin bulunduğu bölgedir. Bu bölgede E1-7 olarak adlandırılan proteinler kodlanırlar ve bu proteinler viral genomun replikasyonundan ve replikasyonun kontrolünden sorumludur. Diğer bölge geç (L) bölgesi olarak bilinir ve L1,L2 olarak adlandırılan kapsid proteinlerini kodlar. Viral genomda bulunan diğer bölgeler kodlama fonksiyonu olmayan ancak viral replikasyonu düzenleyici olarak görev yapan elementlerdir (59).

Bilinen HPV tiplerinin hemen hemen 20'si insanlarda genital mukozayı infekte etmektedir. HPV genotip sınıflandırılmasında esas DNA dizi homolojisiidir. Çünkü HPV'ler invitro hücre kültürlerinde üretilemedikleri için serotiplendirme yapılamamaktadır. Yeni tanımlanan bir HPV eğer diğer bilinen tiplerle %90'dan daha az homoloji gösterir ise yeni tip HPV olarak sınıflandırılır. Bugüne kadar 70'i aşkın HPV tanımlanmıştır (60).

III.5.2. Epidemiyoloji

HPV infeksiyonlarının birçoğunun subklinik seyretmesi nedeniyle bazı bölgelerde prevalansı saptamak mümkün olamamaktadır. Batı ülkelerinde normal servikal sitolojisi olan kadınlarda HPV sıklığının PCR testi ile %10-25 olduğu saptanmıştır (61). Ayrıca kadınlarda birden fazla HPV tip enfeksiyonu da saptanmaktadır. Erkeklerde ise asemptomatik olarak HPV taşıyıcılığı mevcut olup genellikle bu taşıyıcılar infeksiyon kaynağı olarak bilinmektedir. HPV infeksiyonlarının sıklığı Amerika'da yılda 500.000-1.000.000 arasında değişmektedir. HPV infeksiyon insidansı 15 yaşından başlayarak 20-24 yaş arasında

en yüksek düzeye çıkmaktadır. Servikal HPV infeksiyonlarının insidansı bölgelere göre değişmekle beraber bu HPV tiplerinin saptanmasında kullanılan testlerin duyarlılığı ve özgüllüğü çok önem taşımaktadır. Deri siğillerinde ısıtılmış yüzme havuzlarının kullanımı, banyolar geçişte önemli rol oynamaktadır. Ancak genital HPV infeksiyonları seksüel yolla nakledildiği için özellikle seksüel partnerlerin birisinin asemptomatik veya semptomatik olarak infekte olması geçişte rol oynamaktadır (59). Condyloma accuminatum ve anogenital HPV infeksiyonları da seksüel yolla nakledilirler ve en fazla 20-25 yaş arası görülürler. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda ve HIV ile infekte bireylerde genital HPV tip infeksiyonları ve özellikle kadınlarda servikal kanser sık gözlenmektedir.

III.5.3. Klinik Belirtiler

HPVnin yol açtığı klinik durumlar aşağıda belirtilmiştir.

- Deri siğilleri
- Epidermodysplasia verruciformis (EV)
- Larengeal papilloma
- Condylomata acuminata
- İnsan kanserleri (Servikal kanser)

Condylomata acuminata, anogenital veya venereal siğil olarak da bilinir. Lezyonlar hafif hiperkeratotik, sert ve koyu gri renkli ekzofitik papuller ile karakterizedir. Derideki lezyonlar küçük, yuvarlak ve düzgün yapılıdır. Ancak daha büyük deri ve mukozal lezyonlar daha girintili çıkıntılı, düzensiz yapıdadırlar.

Erkeklerde lezyonların en fazla bulunduğu yer sünnetlilerde penisin yüzeyi, diğerlerinde ise preputial kavitedir. Lezyonların büyüklüğü birkaç milimetreden 2 santimetreye kadar değişir.

Erkek hastaların %1-25'inde üretral siğillere rastlanır. Perianal condylomata acuminata genellikle homoseksüellerde görülmekle birlikte heteroseksüellerde de rastlanır (62). Kadınlarda lezyonların çoğunluğu posterior introitus'da bulunmakla birlikte labia minör, labia majör ve klitorise yayılma gösterir. Kadınlarda azalan oranlarda olmak üzere perineum, vajina, anus, serviks ve üretrada %25'den az olmak üzere lezyonlar gözlenebilmektedir.

Anogenital siğilleri olan genç kızların, HPV infeksiyonu yönünden intra-anal veya servikovajinal olarak muayeneleri gereklidir (63). İmmün sistemi baskılanmış hastalarda condylomata acuminatum daha sıklıkla görülmekle birlikte, lezyonlar invazif skuamöz epitelyoma'ya dönüşerek malignant olabilmektedir. Condylomata acuminatumdan en sık saptanan papillomaviruslar tip 6 ve tip 11'dir.

İnsan papillomavirusları ile insan kanserleri arasında iyi bir ilişki kurulmuştur. HPV'ler servikal ve anogenital kanserler başta olmak üzere birçok malignant hastalıkta etiyolojik rol oynamaktadırlar.

Bilinen HPV tiplerinden hemen hemen yirmi kadarı insanlarda genital mukozayı etkilemektedirler. Bugün HPV'lerin bazı tiplerinin servikal kanser etyolojisinde rol oynadığı bilinmekle beraber servikal kanserlerin %95'i HPV infeksiyonu ile ilişkilidir. Genital HPV tipleri, kanser gelişimi ile ilgili olarak üç grupta sınıflandırılabilirler. Bunlardan tip 16, 45 ve 56 yüksek derecede displazi ve servikal kanser oluşumu ile ilişkili olmaları nedeniyle yüksek risk tipleri olarak bilinirler. Bunların dışında tip 18, 31, 33, 35, 51 ve 52 intermediate ve tip 6, 11, 42, 43 ve 44 düşük risk tipleri olarak sınıflandırılırlar (64).

Ülkemizde yapılan çalışmalarda HPV tip 16'nın özellikle CIN 3 ve invaziv kanserlerden çoğunlukla sorumlu olduğu ve bunu HPV 18'in takip ettiği rapor edilmiştir (65).

III.5.4. Tanı

HPV'ler bugüne kadar in vitro olarak hücre kültürlerinde üretilenmemişlerdir. Bu nedenle akut veya geçirilmiş infeksiyonların tanısında kullanılabilecek herhangi bir yöntem mevcut değildir (60). Genital HPV infeksiyonlarının tanısı klinik muayene ile mümkündür. Ancak duyarlı bir yöntem değildir. Bunun nedeni sadece büyük ve papiller lezyonlar klinik olarak saptanabilir. Bazı flat lezyonlar kolposkopik muayene ile saptansa dahi duyarlılığı azdır. Genellikle eksfoliye hücre ve doku biyopsi örneklerinin sitolojik muayenesi tanıya yardımcı olur. HPV ile infekte hücrelerde perinükleer açılma ve bunu saran stoplazmanın yoğunluğunda bir artış görülür. Skuamoz hücrelerde oluşan bu değişikliğe “koilosit” adı verilir. Bu hücrelerde şekil ve büyüklük değişikliğinin yanısıra çekirdek kromatinin dağılımındaki değişim de dikkat çeker.

HPV'lere karşı elde edilen monoklonal antikorlar yardımıyla, antijenler infekte hücrelerde immünokimyasal yöntemler kullanarak saptanabilmektedir. Ancak geç viral yapısal proteinlerin hücrelerde az miktarda sentezlenmesi nedeniyle bu testlerin duyarlılığı azdır(66).

Bugün için HPV'lerin laboratuvar tanısında “altın standart” olarak kabul edilen yöntem virus tiplerine karşı uygulanan hibridizasyon yöntemidir. Hibridizasyon yönteminde “southern blot”, “dot blot”, sandviç”, “in-situ filtre”, “sıvı hibridizasyon” tekniklerinin hepsi uygulanmıştır. Bu tekniklerde viral DNA saptanması için eksfoliye hücre veya doku örneğine gereksinim vardır. İnsitu hibridizasyon tekniği hem epizomal hem de hücre kromazomuna integre olmuş viral DNA'nın saptanmasında avantaj sağlamaktadır(67). PCR teknolojisinin gelişiminden önce “southern hibridizasyon yöntemi” tanı için tercih edilmekteydi. Bu testte dokudan elde edilen DNA, daha önceden denatüre edilmiş ve membran üzerine

alınmış HPV DNA'sı ile hibridize edilir. Testin avantajı tek bir deneyde dokuda bulunan birçok HPV tipinin taranmasına olanak sağlamasıdır. "Dot blot" yöntemi, southern hibridizasyon yönteminden sonra en sık kullanılan diğer bir testtir(66).

HPV DNA'sının hibridizasyon öncesi PCR yöntemiyle amplifiye edilmesi, testin duyarlılığını son derece artırmaktadır. HPV tanısında polimeraz zincir reaksiyonu için çeşitli primer ve yöntemler tayin edilmiştir.

Şu anda HPV enfeksiyonlarının tanısında kullanılabilecek tatmin edici bir serolojik test mevcut değildir. Özellikle virus benzeri papilloma partiküllerinden oluşan antijenlerle ELİSA testi geliştirilmiş ve HPV1, HPV 6, HPV 11, HPV 16 enfeksiyonlarının tanısında kullanılmıştır. Bu yöntem ancak hastaların %50'sini saptayabilmektedir.

III.6. SİTOKİNLER

Sitokinler; çeşitli hücrelerden salgılanan, doğal ve spesifik immün yanıt oluşumunda rol oynayan, çözünür peptid veya glikoprotein yapısında maddelerdir. Hücreler arası sinyal proteinleri olan sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıt oluşumu, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi farklı birçok biyolojik olayın düzenlenmesinde rol alırlar. Değişik uyarılara cevap olarak salınan sitokinler, hedef hücrelerin büyüme, farklılaşma, mobilite ve fonksiyonlarını etkilerler (68,69,70).

Sitokin terimi; lenfokin, monokin, interlökin (IL), interferon (IFN), büyüme faktörleri, kemokinler ve virokinler gibi değişik isimlerle gruplandırılan molekülleri kapsamaktadır (69).

Sitokinler, fonksiyonları bakımından immün sistemin hormonları olarak düşünülebilirse de birçok özellikleri ile endokrin hormonlardan ayrılmaktadırlar. Sitokinler özelleşmiş bezler tarafından değil, birçok farklı hücreler tarafından yapılmaktadır. Hormonların aksine, genelde etkilerini parakrin veya otokrin şekilde

lokal olarak gösterirler. Bu şekilde etki gösteren 100'ün üzerinde sitokin ayırt edilmiştir. Düşük molekül ağırlıklı bu düzenleyici proteinler, hedef hücrelerdeki yüksek afiniteli spesifik reseptörlere bağlanarak, 10^{-10} - 10^{-15} M gibi çok düşük konsantrasyonlarda etki edebilirler (68,69,70).

Sitokinler, immün cevabı stimülasyon ya da inhibisyon yoluyla düzenlemek, lenfoid hücrelerin ve diğer bazı hücrelerin çoğalma ve farklılaşmalarını sağlamak, inflamasyon olaylarına katılan hücreleri aktive etmek ve reaksiyon yerine toplayarak orada tutmak, ateş ve akut faz cevabını oluşturmak, fibroblast aktivasyonu ve kemik rezorbsiyonuna katkıda bulunmak, bazı hipofiz hormonlarının ve diğer biyolojik maddelerin sentez ve salınımlarına neden olmak, kemik iliğine etki ile hematopoetik regülasyona katılmak ve antiviral etkinlik gibi çok çeşitli etkilerde bulunmaktadırlar (71).

Hem kadın hem de erkeklerin üreme sistemi sayısız immün cevap hücresi içerir. Sitokinlerin intersellüler iletişimde önemli bir rol oynadıkları, özellikle birçok fizyolojik ve patolojik süreci etkileyerek erkek reproduktif sistemde önemli fonksiyonlar oynadıkları bildirilmektedir. İmmün modülasyondaki rollerinin dışında bu polipeptidlerin bazılarının direkt olarak testiküler fonksiyonların regülasyonunda yer alarak testislerden açığa çıkan steroidlerin potent modülatörleri olabilecekleri düşünülmektedir (72-75).

III.6.1. Sitokin Reseptörleri

Sitokinler hücre yüzeyinde yer alan spesifik reseptörlere bağlanarak etki gösterirler. Birçok farklı sitokin reseptörünün ekstrasellüler domenleri bir ölçüde benzerlik göstermesine rağmen, intrasellüler domenleri farklıdır. Sitokin reseptörleri dört geniş grup içinde sınıflandırılır.

I: Tip I reseptör süper ailesi; hemopoietin reseptörleri olarak da bilinen en geniş sitokin reseptörleri ailesidir. Bu grupta başlıca, granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF), IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15 reseptörleri ve lösemi inhibitör faktörü (LIF) yer alır.

II. Tip 2 veya immunglobulin süper ailesi; bu grupta, IFN tipleri, IL-10 ve M-CSF bulunmaktadır.

III. Tip 3 sitokin reseptörleri; bu grupta, TNF- α ve TNF- β reseptörleri bulunmaktadır.

IV. Tip 4 sitokin reseptör ailesi; IL-1 α ve β reseptörlerini içerir (15,20).

Hücre yüzeyindeki transmembran reseptör molekülleri sitokin etkileşiminde çok önemlidir. Bu moleküllerin aktivasyon ile artışları yoğun sinyalizasyonun gereğidir. Baskılayıcı etkiler reseptör yapımını azaltabilir. Reseptör moleküller membrana bağlı oldukları gibi çözünür halde de bulunabilirler (76,77).

III.6.2. Sitokin Etkilerinin Düzenlenmesi ve Sitokin Antagonistleri

Sitokinler genelde bir uyarı sonrası geçici olarak salgılanırlar. Karmaşık sitokin ağı içerisinde sitokin salgılanmasını ve fonksiyonlarını etkileyen sitokin inhibitörleri de bulunur ve bu inhibitörler normal immün cevapta önemlidir. Bu inhibisyonun olmayışı, doku hasarı ile sonuçlanabilen bir inflamasyonun ortaya çıkmasına yol açabilir (71,76).

Sitokin moleküllerinin etkisini ortadan kaldırabilen veya azaltabilen başlıca 6 grup molekül vardır:

1-Reseptör antagonistleri: Bu moleküller reseptörlere bağlanarak sitokin etkisini bloke ederler. IL-1'in reseptör antagonisti olan IL-1RA, 18 kDa ağırlığında bir protein olup, bu tip moleküllerin en iyi bilinen örneğini oluşturur. IL-1 reseptörüne bağlanır fakat hücreyi aktive etmez. Böylece reseptör aracılığıyla sinyal

transdüksiyonunu önler. IL-4, IL-10 ve TGF- β ; IL-1 RA yapımını artırır. IL-1 yapımını ise azaltırlar (77).

2-Çözünür sitokin reseptörleri: Bunlar hücre yüzeyinden ayrılmış ekstrasellüler sitokin reseptör domenlerinden oluşurlar. Çözünür reseptörler genellikle sitokinleri serumda bağlayarak etkilerini ortadan kaldırırlar. Serumda IL-2, IL-4, IL-6, IL-14, IL-15, IL-17, TNF, bazı adezyon molekülleri ve hormonlar için çözünür reseptörler bulunduğu gösterilmiştir. Ancak çözünür reseptörlerin bazıları sitokinle bağlandıklarında sitokin etkisi değişmeyebilir veya bazen artabilir.

3-Inhibitör sitokinler: IL-10, IL-4, IL-2, IFN- γ ve TGF- β 'nın baskılayıcı etkileri bilinmektedir.

4-Sitokin otoantikorları: Sitokinleri spesifik olarak nötralize ederler (anti-IL-8, anti-IL-6 vs.). bunlar sitokin eksprese eden hücrelerin kompleman aracılığı ile ölümünü de şiddetlendirebilirler. Rekombinan sitokinlerle tedavi edilen hastalarda otoantikorlar artmış olabilmektedir. TNF- α , ve β , kemokinler, G-CSF, IL-1 β , IL-2 ve IFN- γ gibi çeşitli sitokinlere karşı doğal antikorlar rapor edilmiştir (78).

5-Inhibitör proteinler: Bazı insan proteinleri de sitokinlere bağlanarak onların biyolojik etkilerini azaltabilirler. Gebe kadın idrarında bulunan uromodülin, IL-1 ve TNF- α 'ya yüksek afinite ile bağlanır ve fonksiyonlarını inhibe eder (77).

6-Sitokin reseptörlerinin yokluğu: Bunun en tipik örneği, IFN- γ RI'nin mutasyon sonucu silinmesi ile IFN- γ 'nın makrofajları aktive etmesinin önlenmesidir (77).

III.6.3. Enfeksiyon ve İnflamasyonda Sitokinlerin Rolü

Enfeksiyon hastalıklarının çoğunda yerel veya sistemik inflamatuvar cevabın temel patolojiyi oluşturduğu bilinmektedir. Sistemik inflamatuvar cevapların oluşmasında inflamasyonun diğer mediatörleri (COX-2 ve prostaglandinler,

lökotrienler, PAF, NO, adezyon molekülleri vs.) ile birlikte sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-12, IL-18, kemokinler, IFN- γ , IL-6 vs.) kritik rol oynadıkları kabul edilmektedir.

İnflamatuvar hastalık sırasında, inflamasyonun bilinen çeşitli mediatörleri (sitokinler, kompleman sistemi, araşidonik asit türevleri, çeşitli reaktif moleküller vb.) orkestrasyonu kolay olmayan, karmaşık bir düzen içinde çalışırlar. İnflamasyonun yaygınlığı ve şiddeti ile bu mediatörlerin konsantrasyonları arasında genellikle bir paralellik bulunduğu kabul edilir (77).

Antijen ile ilk karşılaşmada Th lenfositler az miktarda IL-12 üretirler. IL-12, NK ve T hücrelerden IFN- γ salınımı için güçlü uyarı oluşturur. Aktivasyon ile efektör T lenfositler oluşur. CD4⁺ Th hücreler Th1 veya Th2'den daha heterojen etkili sitokin yaparlar ki bunlar tip 0 (Th0) olarak adlandırılır. İlk aşamada oluşan Th0 lenfositler IL-2, IL-4, IFN- γ yaparlar. Daha sonra olgun Th lenfositler ürettikleri sitokinlere göre Th1 ve Th2 alt gruplarına ayrılırlar. Ortamda IL-12 var ise Th1 lenfositler, IL-4 var ise Th2 lenfositler gelişir. Her iki alt grup birbirlerinin gelişiminikarşılıklı olarak inhibe ederler ve farklı sitokinler üretmelerinden dolayı farklı immun reaksiyon tiplerini oluştururlar.

Th1 lenfositler; IL-2, IFN- γ , TNF- β yaparlar. Bu sitokinler IgG2a opsonizasyonu, makrofajlar ve diğer fagositler tarafından oluşturulan, intrasellüler mikroorganizmaların öldürülmesi ve geç tip hipersensitiviteyi içeren koruyucu reaksiyonları sağlar. IFN- γ makrofajları aktive ederek mikrobisidal aktivitelerini artırır. Th2 lenfositler ise; IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 salgırlar. Bu sitokinler inflamasyon alanına mast hücrelerinin ve eozinofillerin gelişini ve aktivasyonunu uyarırlar ve mikroorganizmaya karşı savunmayı sağlarlar (71,76,77).

İmmun cevap oluşumunun ilk basamağında, antijeni Th lenfositine sunan antijen sunan hücre (APC) tarafından iki önemli sitokin salgılanır; IL-1 ve IFN- α . Bu sitokinler Th lenfositin aktivasyonunda kostimülatör olarak iş görürler. Bu etki APC üzerindeki otokrin etkiler aracılığı ile ortaya çıkar. Parakrin etkilerinin de Th hücrelerinde IL-2 salınımı, IL-2R ve IFN- γ R etkisini artırarak yaparlar. Ancak, bu iki sitokinin esas önemi inflamasyonda lokal ve sistemik olarak oynadıkları roldür. Bu nedenle IL-1, TNF- α ve IL-6 pro-inflamatuar sitokinler olarak bilinirler (71,78).

Proinflamatuar sitokinlerin birçok sistemik etkileri bulunmaktadır. Hücre aktivasyonu ve çoğalması, nöropeptid salınımı ve hipotalamus-hipofiz-adrenal aktivasyonu ve çoğalması, nöropeptid salınımı ve hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenin aktivasyonu, ateş ve akut faz proteinlerinin indüksiyonu, adezyon moleküllerinin sentezlenmesi, kapiller geçirgenliğin artması, nötrofili, kemotaksis ve kompleman aktivasyonu, araşidonik asit türevlerinin sentezi, endotelde prokoagülan aktivasyonunun indüksiyonu, hipotansiyon ve şok gelişimi proinflamatuar sitokinlerin sistemik etkileri arasında başlıcalarıdır (71,77)

V. GEREÇ VE YÖNTEM

IV.1 Sperm Örneklerinin Toplanması ve Sperm Analizi

2006 yılı içinde Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji polikliniğine başvuran ve spermiogram tetkiki yaptıran olgular çalışmaya alındı. Geçirilmiş seksüel geçişli hastalık, nörolojik hastalık, diabetes mellitus, hipertansiyon, geçirilmiş operasyon, ilaç kullanımını sorgulayan ayrıntılı özgeçmiş tüm hastalardan alındı. Hastaların her birinin penis, testis, epididim ve vas deferensi içeren ayrıntılı fiziksel muayeneleri yapıldı. Üriner enfeksiyonu dışlamak için rutin olarak her hastada tam idrar tahlili bakıldı. Aktif üriner sistem enfeksiyonu olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya dahil edilen 144 infertil ve 31 fertil olguda 48–72 saat süren cinsel perhizi takiben steril kaplar içine mastürbasyonla semen örnekleri alındı. Örnekler 37 °C’de 30 dakika bekletildikten sonra Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre makler sperm sayma kamarası ile rutin semen analizi yapıldı. Ardından tüm örnekler iki eşit parçaya bölündü. IL–18 değerlendirmesi için ayrılan örnekler santrifüj edildikten sonra seminal plazmaları ayrılarak, -80 °C’de analiz tarihine kadar saklandı. PCR ile CT ve HPV bakısı yapılacak örneklerse santrifüj edilmeden -80 °C’de saklandı.

Muayeneleri sırasında varikozel saptanan hastalar (n=73), sperm analizinde oligospermi saptanan hastalar (n=84), asthenospermi saptanan hastalar (n=61) ve azospermi saptanan hastalar (n=25) çalışmanın alt grupları olarak belirlendi.

IV.2. HPV ve Chlamydia Trachomatis’in Tespiti

IV.2.1. Ayraçlar

1-1 M Tris-Cl

Trisma base (Sigma, T8524)

46.5 g

Trisma HCl (Sigma T71149) 18.3 g

Distile su 500 ml'ye tamamlandı.(pH= 8.0)

2- EDTA (ethylene diamine tetraacetate) (Sigma, E5134)

	<u>0.5 M</u>	<u>0.2 M</u>
Na ₂ EDTA	18.6 g	7.44 g
Distile H ₂ O	100 ml	100 ml

EDTA pH=8.0 'da erir. 1-2 g NaOH pelleti ile istenen pH elde edildi ve otoklavlandı.

3- Tris-Borik asit-EDTA (TBE -5X) buffer:

Tris base (Sigma, T8524)	54 g
Borik asit (Sigma, B6768)	27.5 g
0.5 M EDTA	20 ml

Distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı. Oda ısısında 1 ay stabildir.

4- Agaroz: (Sigma, A9539)

5- Etidyum bromid: (1000X, 5 mg/ ml) (Sigma, E8751)

Etidyum bromid	0.5 g
Distile su	100 ml

Işıktan korumak için alüminyum folyo ile kaplandı. + 4°C de saklandı.

6- Jel yükleme tamponu: (6X)

%0.25 bromfenol mavisi (Sigma, B5525)	0.75 ml
%0.25 xylene siyanol FF (Sigma, X4126)	1.5 ml
%30 gliserol (su içindeki karışımı)	9 ml
Distile su	18.75 ml

7- Viral nükleik asit ekstraksiyon kiti: (Nucleospin Tissue Macharey-Nagel ticari DNA izolasyon kiti)

8- 10mM dNTP karışımı: (Fermentas)

9- Hot Start Taq DNA Polimerase: (Fermantas)

10-DNA belirleyicisi: (Fermentas) DNA molecular weight marker

11-Kullanılan öncüller, dizileri ve hedef bölgeleri:

Chlamydia trachomatis'in kriptik plazmidine özgül 241 baz çiftlik bölgeler için CR analizi (79).

<u>Öncül adı</u>		<u>Dizi</u>
KL 1	Sense	5'-TCCGGAGCGAGTTACGAAGA-3'
KL 2	Antisense	5'-AATCAATGCCCCGGGATTGGT-3'

Human Papilloma Virüs'ün L bölgesine özgül 450 baz çiftlik bölgeler için PCR analizi (80)

<u>Öncül adı</u>		<u>Dizi</u>
MY09	Sense	5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3'
MY11	Antisense	5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'

B-globin genine özgül 268 baz çiftlik bölge için PCR analizi (80)

<u>Öncül adı</u>		<u>Dizi</u>
GH20	Sense	5'-GAAGAGCCAAGGACCGGTAC -3'
PC04	Antisense	5'-CAACTTCATCCACGTTTCACC -3'

IV.2.2. Semen örneklerinden HPV DNA'nın ekstraksiyonu

Çalışma için oda ısısına getirilen örneklerden DNA'nın izolasyonu için ticari bir kit olan Nucleospin Tissue Macharey-Nagel ticari DNA izolasyon kiti kullanıldı. İzolasyon üretici firmanın önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

Yöntemde kısaca, hedef nükleik asidi ortaya çıkarmak için 180 µl tampon T1 ve 25 µl proteinaz K eklendi ve vortekslenerek karışması sağlandı. Tam lizis elde edinceye kadar 3 saat boyunca 56 C de bekletildi. Örnekler tekrar vortekslenerek 200 µl tampon (Buffer3) eklendi. Yine vorteksleme yapıldıktan sonra 70⁰C'de 10 dakika daha bekletildi. Karışıma %96'lık etanol eklenip spin kolonlara aktarılıp kolon santrifüjleme yöntemi kullanılarak, nükleik asit kaotropik tuz varlığında silika membranlar üzerindeki "fiber glass" yüzeye bağlandı. Yıkama basamaklarından sonra, nükleik asit, önceden 70⁰C'de ısıtılmış 100 µl elution tampon içerisine süzüldü. Bunun için 11000x g'de 1 dakika santrifüj edildi. Elde edilen 100 µl nükleik asit kullanımına kadar -20⁰C'de saklandı.

IV.2.3. PCR ile Çoğaltma

Chlamydia trachomatis'in kriptik plazmidinin PCR ile çoğaltılması:

1- PCR karışımı buz üzerinde ve toplam hacim 50µl olacak şekilde hazırlandı. Tek bir örnek için karışımın içeriği:

10x Taq buffer	5 µl
25 mM MgCl ₂	5 µl
Nükleotid karışımı (5 mM)	2 µl
Öncül KL1 (sense) (10 pmol/µl)	5 µl
Öncül KL2 (antisense) (10 pmol/µl)	5 µl
Hot start Taq polimeraz (5U/µl)	0,2 µl
DEPC-H ₂ O	17.8 µl

DNA 10 µl

2- Isı döngü programı

PCR tüpleri ısı döngü cihazına (Eppendorf 310) yerleştirilerek aşağıdaki program uygulandı.

94 °C'de	60 saniye	}	35 döngü
55 °C'de	60 saniye		
72 °C'de	2 dakika		
72 °C'de	7 dakika son uzama		

PCR'da örnekler pozitif ve negatif kontroller ile birlikte çalışıldı.

HPV DNA L bölgesinin PCR ile çoğaltılması

1- PCR karışımı, buz üzerinde ve toplam hacim 50µl olacak şekilde hazırlandı. Tek bir örnek için karışımın içeriği:

10x Taq buffer	5 µl
25 mM MgCl ₂	5 µl
Nükleotid karışımı (10 mM)	1 µl
Öncül MY09 (sense) (50 pmol/µl)	1 µl
Öncül MY11 (antisense)(50 pmol/µl)	1 µl
Hot startTaq polimeraz (5U/µl)	0,25 µl
DEPC-H ₂ O	31,75 µl
DNA	5 µl

2- Isı döngü programı

PCR tüpleri ısı döngü cihazına (Eppendorf) yerleştirilerek program uygulandı:

94 °C'de	5 dakika ön denatürasyon		
94 °C'de	20 saniye	}	35 döngü
55 °C'de	45 saniye		

72 °C'de 1 dakika

72 °C'de 7 dakika son uzama

β-globinin PCR ile çoğaltılması

1- PCR karışımı, buz üzerinde ve toplam hacim 50µl olacak şekilde hazırlandı. Tek bir örnek için karışımın içeriği:

10x Taq buffer	5 µl
25 mM MgCl ₂	5 µl
Nükleotid karışımı (10 mM)	1 µl
Öncül GH20 (sense) (10 pmol/µl)	1 µl
Öncül PC04 (antisense)(10 pmol/µl)	1 µl
Hot startTaq polimeraz (5U/µl)	0,25 µl
DEPC-H ₂ O	31,75 µl
DNA	5 µl

2- Isı döngü programı

PCR tüpleri ısı döngü cihazına (Eppendorf,) yerleştirilerek program uygulandı:

94 °C'de 5 dakika ön denatürasyon

94 °C'de	20 saniye	}	35 döngü
55 °C'de	45 saniye		
72 °C'de	1 dakika		

72 °C'de 7 dakika son uzama

IV.2.4. Elektroforez

Sonuçların değerlendirilmesi amacı ile, 1x TBE içinde %2'lik agaroz jel hazırlandı. Hazırlanan jel kalıbına döküldü, taraklar yerleştirilerek donmaya bırakıldı. PCR ürünleri jel yükleme boyası ile 1/6 oranında (2 µl jel yükleme tamponu + 10 µl çoğaltılmış ürün) karıştırılarak ve 50 baz aralıklı bir belirleyici

(DNA molecular weight marker, Fermentas) ile birlikte jele aktarıldı. Jel 1x TBE içinde 100 volt uygulanarak 60 dakika yürütüldü. Oluşan bantlar ultraviyole ile incelendi. Bant büyüklükleri marker ile karşılaştırıldı ve Chlamydia trachomatis kriptik plazmid bölgesi için 241 bp, HPV L bölgesi için 450 bp, betaglobin için 268 bp büyüklüğündeki bantlar olumlu olarak değerlendirildi.

IV.3. Seminal Plazma IL-18 Düzeyinin Ölçülmesi

Seminal plazma örnekleri 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra IL-18 analizi için kullanılmak üzere -80 °C'ye kaldırıldı. IL-18; ELISA (Biosource cat:KHC0181) kit ile çalışıldı. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

IV.4. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel analizi Student's t, Chi-square test ve Mann-Whitney U testleri kullanılarak SPSS 10.0 bilgisayar programı ile yapıldı.

VI. SONUÇLAR

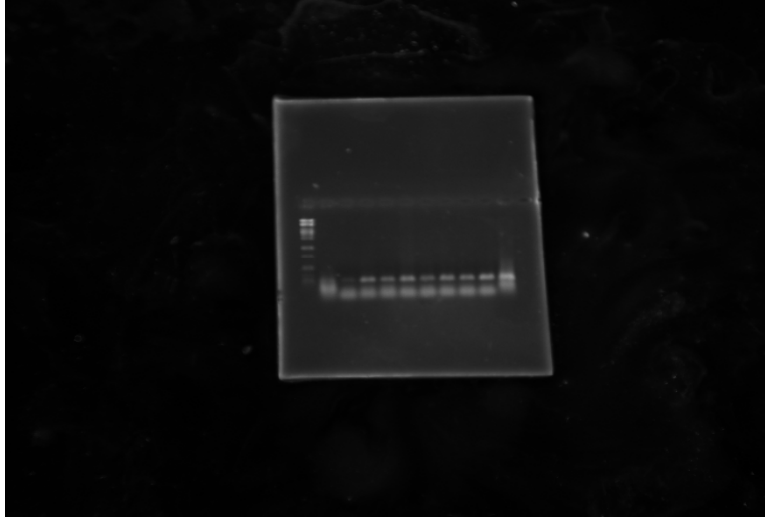
Çalışmada 144 infertil ve 31 fertil olmak üzere toplam 175 olgunun semen örneği incelendi. İnfertil ve fertil grubun yaş ortalaması sırasıyla $32.7 \pm 5,5$ ve $32,3 \pm 5,9$ olup, gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Fertil ve infertil grupların sperm sayı ve hareket parametreleri tablo 2’de verilmiştir. Parametreler değerlendirildiğinde her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p< 0.05$).

Tablo 2. Grupların sperm parametreleri

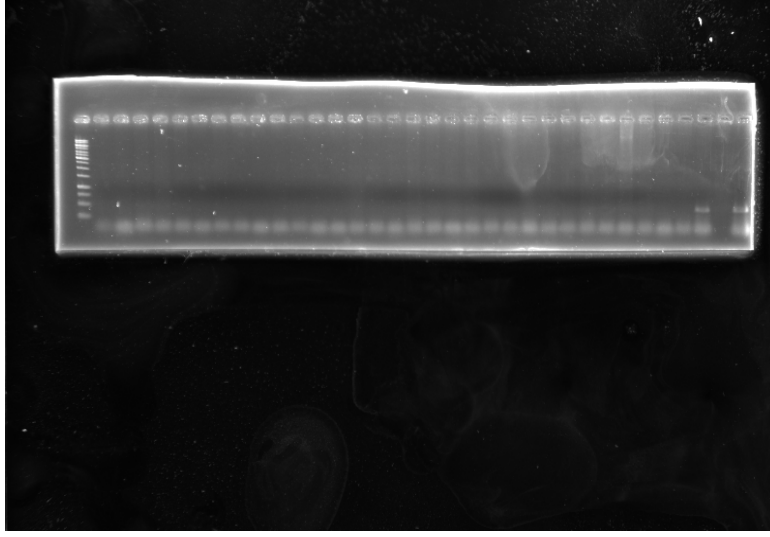
Grup	Sayı* ($\times 10^6/\text{ml}$)	Hareket*
Fertil	$97,5 \pm 54,5$	$60,2 \pm 11,3$
İnfertil	$30,8 \pm 41,6$	$43,6 \pm 19,8$

*Ortalama $\pm$ standard deviasyon

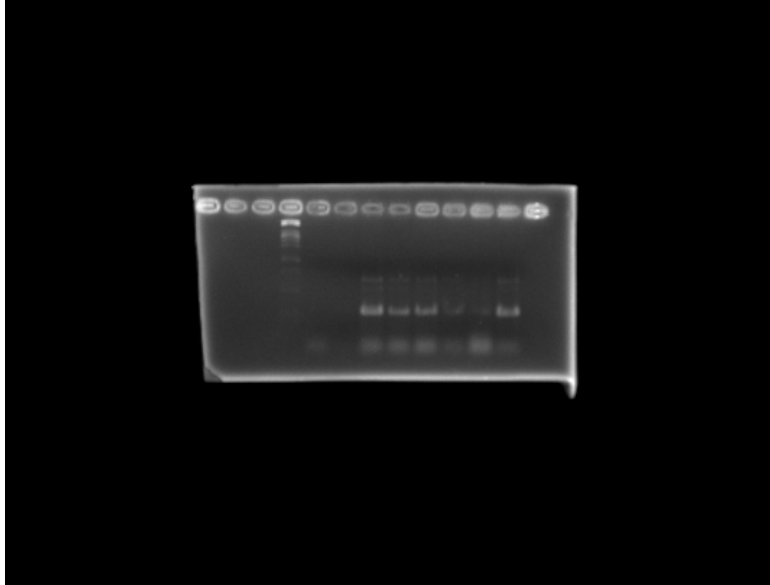
Kliniğimize 1 yıl içinde başvuran 175 olgunun 2’sinde (% 1.1) HPV, 15 hastada ise (% 8,6) Chlamydia trachomatis pozitifliği saptanmıştır (Resim 1-3). HPV ve Chlamydia trachomatis’in birlikte pozitif olduğu bir hasta ise bulunmamıştır.



Resim 1. Chlamydia Trachomatis PCR analizi; No1-Moleküler marker, No2-Negatif kontrol, No3,4,5,6,7,8,9,10-Chlamydia pozitif örnekler, No11-Pozitif kontrol



Resim 2. Human Papillomavirüs PCR analizi; No1-Moleküler marker, No2-Negatif kontrol, No31-Pozitif örnek, No32-Boş, No33-Pozitif kontrol



Resim 3. β -Globin PCR analizi; No1-Moleküler marker, No2-Negatif kontrol, No3-Tüm semen örnekleri içinde negatif bulunan tek örnek, No4,5,6,7,8,9-Pozitif örnekler

Gruplarda IL-18 sonuçları değerlendirildiğinde, tüm olgularda ölçülebilir seviyeler saptandı ve 2,3 pg/ml ile 234,3 pg/ml arasında değişmekteydi (ortalama $40,25 \pm 38,18$). Fertil grubun ortalama IL-18 değeri ($43,73 \pm 37,81$) ile infertil grubun ortalama değeri ($39,50 \pm 38,38$) arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Fertil grupta 1 (%3,2) ve infertil grupta 1 (%0,7) hastada HPV pozitifliği saptandı, farklar istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($p > 0.05$). Yine fertil grupta 3 (%9,7) ve infertil grupta 12 (%8,3) olguda saptanan Chlamydia pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0.05$).

Belirlenen alt gruplarda, HPV ve Chlamydia sıklığı ile IL-18 düzeyleri tablo 3'te gösterildi.

Tablo 3. Alt gruplarda Chlamydia, HPV pozitifliği ile IL-18 değerleri*

Alt Grup	Chlamydia %	HPV %	IL-18* (pg/ml)
Varikozel (n=73)	10,9	0	$39,6 \pm 35,5$
Oligospermi (n=84)	6,0	1,2	$40,4 \pm 38,4$
Asthenospermi (n=61)	13,1	0	$34,5 \pm 29,1$
Azospermi (n=25)	0	4,0	$46,6 \pm 46,7$

*(ortalama $\pm$ standard deviasyon)

Fertil ve tablo 3'de gösterilen infertil alt gruplar ayrı ayrı karşılaştırıldığında; sayı ve hareketi içeren sperm parametreleri arasındaki farklar anlamlı iken, gerek HPV gerekse de Chlamydia pozitifliği açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0.05$). Hasta grubunda %43.1 (n=62), kontrol grubunda ise %35,5 (n=11) varikozel saptanması istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). İnfertil varikozel grubunda HPV, Chlamydia ve IL-18 değerleri fertil varikozelli gruba göre anlamlı fark göstermiyordu ($p > 0.05$).

Oligospermik ve asthenospermik hasta grupları değerlendirildiğinde HPV, Chlamydia ve IL-18 değerlerinde anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Azospermik hastalar diğer bir alt grup olarak değerlendirildiğinde HPV, Chlamydia ve IL-18 değerleri diğer gruplarla anlamlı farklılık göstermemekteydi ($p > 0.05$).

Kliniğimizde 1 yıl içerisinde biriktirilen semenlerde HPV pozitif olan 2 hastayı inceleyecek olursak, birinin infertil ve diğerinin fertil grupta olduğunu görmekteyiz. İnfertil gruptaki hastanın sperm analizinde azospermi mevcutken, fertil grupta yer alan olgunun semen analizi normospermikti. İnfertil olan hastanın IL-18 düzeyi 41,1 pg/ml iken fertil olgunun ki 21,5 pg/ml idi. Chlamydia pozitif hastalar fertil ve infertil grup olarak, ortalama sperm sayısı ve hareket değerlerine göre karşılaştırıldığında fark anlamlı iken, IL-18 değerleri farkı anlamsız bulundu. Ancak fertil grupta sadece 3 hasta bulunması nedeniyle istatistiksel sonuçların sağlıklı olmayacağı düşünülebilir (Tablo 4).

Tablo 4. Chlamydia pozitif hastaların sperm sayısı, hareket ve IL-18 düzeyleri

Grup	Sperm ortalama sayısı*	Sperm ortalama*. hareketlilik	IL-18*
Fertil (n=3)	110 (80–115)	65 (65–80)	43,08 (29,17–214,03)
İnfertil (n=12)	26,5(0,1–100)	40 (0-70)	31,87 (2,29–101,56)
P değeri	<0,05	<0,05	>0,05

*Median, (min-maks)

VII. TARTIŞMA

Evlenen çiftlerin % 10-15 kadarı infertilite problemi ile karşılaşmaktadır. Bunların % 60 kadarından erkek faktörü sorumludur (81). Erkek infertilitesinin etiyolojik faktörlerinden % 30' u idiyopatik infertilite olarak bilinmektedir. Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar da erkek infertilitesinin önemli bir nedeni olabilmektedir. Genital enfeksiyonlar fertilitiyi spermatogenezisin bozulması, sperm fonksiyonunun bozulması ve seminal traktın obstrüksiyonu yoluyla etkileyebilmektedir (82).

Genital traktın bakteriyel enfeksiyonları genellikle üretradan assendan yolla gelişir. Viral enfeksiyonlar ise hem üretradan assendan yolla hem de kan akımı yoluyla genital tarkta yayılabilir. Bakteriyel enfeksiyonlar en sık prostat ve epididime yerleşirken viral enfeksiyonlar sıklıkla daha geniş alanlara yayılırlar (Örneğin hpv epitel hücrelerine, hsv-2 nöronal hürelere, HIV – CMV – EBV lökositlere) (83).

Kan – testis bariyeri sertoli hücreleri arasındaki tight junction'lar ile yapılır, normal sperm gelişiminin sürdürülmesi için temel bir yapıdır. Bu bariyer seminifer tubul lümenini izole bir kompartman haline getirir. Spermatozit ve sperm antijenlerinin immun sistem ile ilişkisini engeller (84). Enfektif süreç nedeniyle kan testis bariyerinin bozulması serum ve seminal plazmada saptanabilen sperm antikorları oluşumuna neden olabilir (83). Serumda saptanan antikorların fertilitiyi üzerine etkileri belirsizken (85) semende saptanan antikorların sperm fonksiyonunu etkilediği gösterilmiştir (83). Antikor oluşumu germ hücre fonksiyonlarını değiştirebilir ya da bozabilir. İnfeksiyonlar ve/veya inflamatuvar süreçler testiste otoantikorların üretimine neden olabilirler (86).

Adezyon ve/veya aglütinasyon ile bazı mikroorganizmalar sperm hücrelerini immobilize edebilir. Bu etki semende bakterinin konsantrasyonuna bağlıdır. E. Coli,

CT, mikoplazmalar, candida albicans ve trichomonas vaginalis'in sperm aglütinasyonu yaptığı değişik çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca sperm hücre yüzeyinin bakteri ile kaplanması sperm-oosit etkileşiminide bozabilir (83).

Normozospermik erkeklerden elde edilmiş insan spermleri CT E ve LGV serovarlarının elemanter cisimleri ile inkübe edildiğinde prematür sperm ölümlerine sebep olmuşlardır. Bazı serovarlar ile sperm fonksiyonları üzerine olan zararlı etkiler, infertilitenin şimdiye kadar tanı konmamış komponenti olabileceğini destekler (87).

Erkek ejakülatında elektron mikroskopik araştırmalar spermatozoa içinde CT elemanter ve retiküler cisimlerin her ikisinin varlığını göstermiştir. Dahası, insan spermi baş kısmı içine elemanter cismin girişi gösterilmiştir. Nukleus içine elemanter cisim formasyonunun girişinden sonra, sperm baş kısmında retiküler cisim formasyonu tüm evrelerde tespit edilmiştir (88). Buna rağmen CT'in sperm fonksiyonları üzerindeki direkt etkileri hakkında çok az bilgi vardır (86).

CT, endüstriyel toplumlarda en sık ve gelişmekte olan ülkelerde giderek artan sıklıkta karşılaşılan cinsel yolla bulaşan hastalık etkenidir (89). Yaklaşık olarak kadınlarda %70-80, erkeklerde %50 oranında hastalık semptom vermez (86). Literatürde değişik prevelans oranları bildirilmiştir. Gdoura ve arkadaşları 2001 yılında erkeklerde %35.9, kadınlarda %38.0 prevelans saptamıştır (90). Reitmeijer ve ark. 1991'de semptomatik erkeklerde %4-10 arasında prevalans bildirirmişlerdir (91). Lechner ve arkadaşları 2002 yılında adölesanlarda prevalansını %14 bulmuştur (92).

Hosseinzadeh ve arkadaşlarının asemptomatik klamidyal enfeksiyonlu erkeklerin semen kalitelerini inceledikleri çalışmalarında PCR yöntemi kullanılarak %4,9 prevelans bulunmuştur. Aynı çalışmada klamidya pozitif ve negatif grup

arasında sperm konsantrasyonu ve motilitesi arasında bir fark olmadığını bildirilmişlerdir (93). Bizim çalışmamızda CT prevalansı infertil grupta %8,3 bulunurken, klamidyaya pozitif grupla negatif grup arasında sperm konsantrasyon ve motilitesi açısından benzer şekilde bir farklılık saptanmadı.

Aseptomatik infertil erkeklerin semenlerinde seksüel geçişli patojenlerin prevalansının araştırıldığı bir çalışmada, PCR yöntemi ile CT için %2,5, HPV için ise %4,5 prevalans bildirilmiştir (94) Ülkemizden Ureaplazma urealyticum ve CT enfeksiyonlarının semen parametrelerine etkilerinin araştırıldığı Cerrahpaşa Tıp Fakültesi kaynaklı bir başka çalışmada da infertil olgularda %57,5 oranında CT ve/veya U. urealyticum saptanırken fertil grupta %27 oranında pozitiflik bulunmuş. Chlamydia ve Ureaplazma enfeksiyonu olan hastalarda sperm sayısında bir değişiklik saptanmazken, sperm motilitesinin anlamlı biçimde azalmış olduğunu bulmuşlardır (95). Bizim çalışmamızda infertil grup içinde CT ve HPV oranları sırası ile %8,3 ve % 0,7 saptandı. Sperm konsantrasyonu ve motilite oranları arasında ise farklılık saptanmadı.

CT nedenli erkek infertilitesi konusundaki veriler hala tartışma konusudur (86). Bazı raporlarda erkek infertilitesine önemli ölçüde etkisi olmadığı ifade edilirken (96-100), birçok araştırmacı tarafından ise klamidyal enfeksiyonların direkt olarak erkek infertilitesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (101-111). Bunun dışında ki diğer çalışmalarda indirekt yolla kadınlarda spermatozoaya karşı immün cevap ve antispermantikör oluşumuna neden olarak erkek fertilitasını etkileyebileceği bildirilmiştir (112,113).

CT'nin erkek üreme sistemi üzerine olan direkt etkileri yanında seksüel partnerde oluşturabileceği tubal hasar sekonder infertilite nedenidir (83). Kadınlarda salpenjite yol açar. Klamidyal enfeksiyonlar tubal mukoza ve düz kas hasarı yaparak,

yapışıklık ve tıkanıklıklara yol açarak, fimbriaların fonksiyonunu bozarak infertiliteye sebep olur. Tekrarlayan enfeksiyonlar infertilite riskini artırır. 4 kez klamidyal enfeksiyon geçiren kadınlarda hiç enfeksiyon geçirmemiş kadınlara kıyasla fallop tüpü tıkanıklığı riski çok daha fazladır (114).

Eggert-Kruse ve arkadaşlarının genital sistem enfeksiyonu yönünden asemptomatik olan 1303 subfertil çifti içeren çalışmasında antiklamidyal antikorlar her iki partnerin serumunda araştırılmıştır. Tüm kadınların %21, erkeklerin %13'ünde klamidy IgG antikor titresinin artmış olduğu saptanmıştır. Klamidy antikorları seropozitif hastaların partnerlerinde de büyük oranda pozitiflik saptanmıştır (%51.8). Çalışmada; kadınlarda klamidy antikorlarının artmış titreleri önemli ölçüde tubal bir faktörle ilişkili bulunurken erkeklerde klamidy antikorları sperm konsantrasyon, motilite, morfoloji, antisperm antikorları içeren seminal parametre sonuçları ile ilişkisiz bulunmuştur (115). Bizim çalışmamızda da infertil grup içinde, klamidy pozitifliği olan ve olmayan olgular arasında sperm konsantrasyon ve motilitesi açısından fark saptanmadı.

İki yada daha fazla çocuk sahibi gönüllüler ile 120 subfertil erkeğin katıldığı bir çalışmada CT'e karşı oluşan serum antikor insidansı ve pozitif seroloji ile semen parametreleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Genital enfeksiyon geçmişi olan infertil grupta, genital enfeksiyon geçmişi olan fertil gruba göre daha yüksek insidanda antikor pozitifliği bulunmuştur. Bununla birlikte, klamidy pozitif ve klamidy negatif saptanan fertil ve infertil hastaların semen parametreleri arasında anlamlı bir fark bildirilmemiştir (116). Bizim çalışmamızda da bu gruplar arasında fark görülmedi.

Viral enfeksiyonların, erkek genital traktındaki hücreler üzerine direkt toksik etki ile yada lokal inflamatuvar veya immunolojik reaksiyonlar yoluyla indirekt olarak erkek infertilitesine neden olabileceğine dair artan sayıda kanıt vardır (83).

Semende yüksek riskli HPV'nin saptanması ve semen kalitesi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada PCR yöntemi kullanılarak %15.4 prevalans bulunmuştur. Sperm örnekleri, halen devam eden bir HPV çalışmasına katılan erkeklerden toplanmış, sonuçta HPV DNA pozitifliği ile ne oligo ne de asthenospermi arasında herhangi bir ilişki bulunmamıştır (117). Aseptomatik infertil hastaların semen örneklerinde seksüel yolla geçen patojenlerin PCR ile araştırıldığı yakın zamanlı bir başka çalışmada %4.5 prevalans tespit edilmiştir. Bu çalışmada da sperm konsantrasyon ve motiliteleri arasında diğer gruplara kıyasla anlamlı istatistiksel farklılık saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda çalışma dahiline alınan tüm hastalar içinde sadece 2 semen örneğinde (%1,1) HPV tespit edildi.

Fertilite araştırması için başvuran 63 hastanın semen örneklerinde PCR ile HPV varlığının ve tiplerinin değerlendirildiği bir başka çalışmada 18 semen örneğinde (%28.6) HPV tespit edilmiş. Tip 6 ve 16 en sık görülen alt tip saptanmış. HPV pozitif hastaların ortalama sperm sayısı, HPV negatif gruba göre yüksek bulunsada istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış ($16 \times 10^6/\text{ml}$ 'ye karşı $3.6 \times 10^6/\text{ml}$, $P=0.06$) (118). Bizim çalışmamızda HPV pozitif 2 hasta mevcuttu. Bunlardan biri infertil diğeri ise fertil gruptaydı. İnfertil gruptaki hastanın sperm analizinde azospermi mevcutken fertil grupta yer alan olgunun semen analizi normospermikti.

Olatunbosun ve arkadaşlarının çalışmasında PCR yöntemiyle genital HPV enfeksiyonu belirtileri veya geçmişi olan hastalarla, klinik olarak HPV negatif semen donörlerinin semen örnekleri karşılaştırılmış. HPV'nin genital enfeksiyonu belirtileri veya enfeksiyon geçmişi olan hastalarda %53 oranında pozitiflik saptanırken, sağlıklı

semen donörlerinde %8 oranında pozitiflik saptanmış. Ayrıca sperm yıkama işlemleri ile bulaşı riskinin elimine edilemediği de belirlenmiştir (119).

Erkek infertilitesinin patogeneğinde enfeksiyonun olası rolü göz önüne alındığında İCSİ, İVF, İÜİ gibi uygulamalarda kullanılacak spermatozoaların taranması önemli sonuçlar sağlayabilir. Enfekte spermin belirlenip elenmesi embriyonun düşük oranda tutunması yada prematür doğum gibi sorunları engelleyebilir (120).

Erkek infertilitesinin altta yatan patofizyolojik mekanizmaları içindeki varsayımlardan bir tanesi de genital trakt enfeksiyonudur (121). Genital trakt enfeksiyonu değişik mekanizmalarla erkek infertilitesine sebep olabilir. Mikroorganizmalar ve/veya onların sekretuar ürünleri direkt olarak hasar oluşturabileceği gibi aktive lökosit sayılarının ve sitokinlerin salınımının artması ile ortaya çıkan sekonder inflamasyon da buna sebep olabilir (122).

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 benzemekle birlikte özelleşmiş dokulardan değil de, çeşitli hücreler tarafından yapıldıkları için hormon kabul edilmezler. Peptid ve glikoprotein yapısında olan, ayrıca molekül ağırlıkları 6.000 ile 60.000 dalton olan bu moleküller, birçok hücrenin aktivasyonu ile salgılanmaktadırlar (123).

Seminal plazmada interlökinler ve diğer sitokinlerin varlığı literatürde pek çok çalışmada bildirilmiştir. Yakın zamanlı çalışmalarda, infertil hastaların seminal plazmalarında fertil hastalara kıyasla artmış düzeylerde IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-

12, soluble IL-2 reseptörü ve solubl IL-6 reseptörü olduğu bildirilmiştir (122,124,125,126,127), ancak artmış sitokin seviyeleri ile sperm analizinin değişik parametreleri arasında korelasyon bulunamamıştır (128-130).

IL-18, IFN- γ indükleyici faktör olarak bilinir ve çoğunluğu aktive olmuş makrofajlarca üretilir (131). IL-18'in özellikle fonksiyonel kısımları IL-12 ile, yapısal kısımlarında IL-1 protein ailesi ile benzerdir. Ancak IL-18'in etkileri her ikisinden de bağımsızdır (132). IL-18 proinflatuar özellikleri ile IL-16, IL-6, IL-8, MCP-1 ve TNF-alfa yapımını indükler (133).

Seminal plazmada IL-18 seviyesi hakkında literatürdeki tek veri Matalliotakis ve arkadaşlarının 2006'da yayınlanmış çalışmalarına aittir. Matalliotakis ve arkadaşları fertil ve infertil hastaların seminal plazmalarında IL-18 ve IFN- γ seviyelerini değerlendirmişlerdir. Genital trakt enfeksiyonlu infertil erkeklerde (n=17), klinifelter senromlu grup (n=7) haricindeki diğer gruplara "fertil erkekler (n=18), varikoseli olanlar (n=15), kriptorşidizmi olanlar (n=7) ve idiopatik testiküler lezyonu olanlar (n=10)" kıyasla daha yüksek IL-18 seviyesi tespit etmişlerdir. IL-18 düzeyleri ile sperm konsantrasyonu ve motilitesi arasında ise negatif ilişim saptamışlardır. Sonuçta ürogenital trakt enfeksiyonlu hastalarda seminal plazma IL-18 seviyesinin arttığı ve bununla seminal trakt enfeksiyonunun tanısında kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. (134).

Bizim çalışmamızda fertil ve infertil hastalar arasında ortalama IL-18 seviyelerinde herhangi bir farklılık gözlenmezken alt gruplar arasında da IL-18 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Yüksek IL-18 seviyesi olan hastaların sperm parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.

Bu çalışmanın verileri asemptomatik olguların semeninde HPV ve CT varlığının sperm fonksiyonlarını etkilemediğini ve fertilite üzerinde etkili olabilecek sitokin yanıtını (en azından proinflammatuar bir sitokin olan IL-18 üzerinden) indüklediğini desteklemektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda kliniğimize 1 yıl boyunca semen analizi için başvuran olguları değerlendirerek HPV ve CT için hastanemizdeki prevelans oranlarını belirlemiş olduk. Bu prevelans oranlarının Aydın ili popülasyonunu yansıtan bir sonuç olduğunu düşünmekteyiz. Gelecekte bölgemizde genital enfeksiyonlara yönelik çalışmalar için temel verileri elde ettiğimizi düşünmekteyiz. Semende enfektif ajanlara yönelik bu tip çalışmaların yoğunlaşması ile ülkemizde erkek infertilitesi ve genital enfeksiyonlara yönelik tedavi, önlem alma ve politika belirlemede önemli adımlar atılabilecektir.

VIII. KAYNAKLAR

- 1-Sigman M, Howards SS. Male infertility. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED et al. Campbell's Urology. 7. th ed, Philadelphia, W.B. Saunders company, 1998: 1287-1289
- 2-McClure RD. Erkek inferilitesi. Tanagho EA, McAninch JW. Smith Genel Üroloji. Kazancı G (çeviren). 14. baskı, İstanbul: Nobel, 1999:745-746
- 3-Gürbüz R. Erkek infertilitesi (yaklaşım ve tedavi). 1. baskı, İstanbul: Nobel, 1997:1-4
- 4-Özdiler E, Aydos K. Erkek infertilitesi. Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N. Temel Üroloji. 1. baskı, Ankara: Güneş, 1998: 986-998
- 5-Deborah J. The effect of genital tract infection and inflammation on male infertility. Lipshultz L, Howards S. Infertility in the male. 7 th ed, NewYork: Williams&Wilkins, 1997: 326-333
- 6-Aitken RJ, Baker HWG. Seminal leukocytes: passengers, terrorists or good Samaritans? Hum Repord. 1995; 10: 1736-1739
- 7-Huleihel M, Lunenfeld E, Horowitz S, Levy A, Potanshnik G, Mazor M, Glezerman M. expression of IL-12, IL-10, PGE2, sIL-2R and sIL-6R in seminal plasma of fertile and infertile men. J Androl. 1999; 31: 283-288
- 8-Chama NB, Goluboff E, Fisch H. Infection and pyospermia, In: Male Infertility. Urol Clin North Am. 1994; 21: 469-480
- 9-Maruyama DK, Hale RW, Rogers BJ. Effects of white blood cells on the in vitro penetration of zona-free hamster eggs by human spermatozoa. J Androl. 1985; 6: 127-135
- 10-Jochum M, Pabst W, Schill WB. Granulocyte elastase as a sensitive diagnostic parameter of silent male genital tract inflammation. J Androl. 1986; 18: 413-419

- 11-Wolff H, Anderson DJ. Evaluation of granulocyte elastase as a seminal plasma marker for leukocytospermia. *Fertil Steril*. 1988; 50: 129-130
- 12- Micic S, Macura M, Lalic N, Dotlic R. Elastase as an indicator of silent genital tract infection in infertile man. *Int J Androl*. 1989; 12: 423-429
- 13-Bronson R, Cooper G, Rosenfield D. Sperm antibodies: Their role in infertility. *Fertil Steril*. 1984; 42: 171-177
- 14-Özdiler E, Aydos K. Erkek infertilitesi. Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N. *Temel Üroloji*. 1. baskı, Ankara: Güneş, 1998: 999-1002
- 15-Akkuş E. İmmünolojik infertilite. Özdiler E, Aydos K. *Klinik Androloji*. 1. baskı, Ankara, A.Ü. basımevi, 2000: 297-307
- 16-Turek PJ, Lipshultz LI. Immunologic infertility. *Urol Clin North Am*. 1994; 21: 447-468
- 17-Mazumdar S, Levine AS. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Fertil Steril*. 1998; 70: 799-810
- 18-Hellstrom WJG, Overstreet JW, Samuels SJ, Lewis EL. The relationship of circulating antisperm antibodies to sperm surface antibodies in infertile man. *J Urol*. 1998; 140: 1039-1040
- 19-Aydos K, Yaman Ö, Yaman LS. Erkek infertilitesinin araştırılmasında antisperm antikorların araştırılması. *Klinik bilimler*. 1996; 2(2): 44-49
- 20-Kadioğlu A, Köksal T. Skrotum ve kapsamı hastalıkları. Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, Arıkan N. *Temel Üroloji*. 1. baskı, Ankara: Güneş, 1998: 956-959
- 21-Yaman Ö, Özdiler E. Varikosel. Özdiler E, Aydos K. *Klinik Androloji*. 1. baskı, Ankara, A.Ü. basımevi, 2000: 537-544
- 22-Turek PJ. Male infertility. Tanagho EA, McAninch JW. *Smith's General Urology*. 15. th ed, International edition, the McGraw-Hill Company, 2000: 773-774

- 23-Goldstein M. varicocelelectomy: General considerations. Surgery of male infertility. 4. th ed, Philadelphia: WB Saunders, 1995: 54-86
- 24-Madgar I, Weissenberg R, Lunenfeld B, Karasik A, Goldwasser B. Controlled trial of high spermatic vein ligation for varicocele in infertile men. Fertil Steril. 1995; 63: 120-126
- 25-Kaas EJ, Marcol B. Result of varicocele surgery in adolescents: a comparison of techniques. J Urol. 1992; 148: 694-696
- 26-Türkölmez K. Hipotalamus-Hipofiz-Testis aksı. Özdiler E, Aydos K. Klinik Androloji. 1. baskı, Ankara, A.Ü. basımevi, 2000: 21-34
- 27-Ekmekçioğlu O. Seminifer bepitel ve spermatogenez sitolojisi. Özdiler E, Aydos K. Klinik Androloji. 1. baskı, Ankara, A.Ü. basımevi, 2000: 149-163
- 28-Jones RB, Batteiger BE. Chlamydia Trachomatis (Trachoma, Perinatal Infections, Lymphogranuloma venereum and other Genital Infections) In Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases (eds:Mandell GL, Bennett JE, Dolin R), 5th. Ed. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000: 1989-2004.
- 29-Schacter J. Epidemiology of Human Chlamydial Infections. Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki-Finland, August 20-23, 2000: 307-310.
- 30-Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Chlamydia. In Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 21st ed. Appleton and Lange, Stamford, Connecticut, 1998; 310-316.
- 31-Dereli Gökengin D. Chlamydia Trachomatis.Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar (CTBH) Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No:35, İstanbul 1999: 113-116.
- 32-Serter D. Klamidyalar. Virüs, Riketsiya ve Klamidya Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri. 1996: 94-114.

- 33-Ustaçelebi ř. Klamidyaların moleküler ve biyolojik özellikleri. 1. Ulusal Chlamydia İnfeksiyonları Sempozyumu Bildirileri . Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını No.23İstanbul, 1995: 2-9.
- 34-Bryne G. Pathogenesis of chlamydia trachomatis. In Intracellular Bacterial Infections, Cambridge Medical Pub. 1 st. ed. 1996;43-51.
- 35-Ustaelebi ř. Bacteriology and molecular biology of chlamydiae. FEMS Workshop on Human Chlamydial Infections. Final program and Proceedings Book. İzmir, May 12-16, 1997: 9-23.
- 36-Schacter J. Pathogenesis of Chlamydia Trachomatis. FEMS Workshop on Human Chlamydial Infections. Final program and Proceedings Book. İzmir, May 12-16, 1997: 25.
- 37-Stary A. Epidemiology of chlamydial infections. FEMS Workshop on Human Chlamydial Infections. Final program and Proceedings Book. İzmir, May 12-16, 1997: 45-46.
- 38-Munoz B, Aron J, West S: A model for the dynamics of transmission of trachoma and hyperendemic areas. Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydial Research. Vienna-Austria, september 11-14, 1996: 182.
- 39-Schumacher HA. Chlamydial Arthritis. Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki-Finland, August 20-23, 2000: 229-230.
- 40-Templeton A. Chlamydia trachomatis and infertility. Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki-Finland, August 20-23, 2000: 223-224.

- 41-Tavmergen E, Serter D, Tavmergen EN, Dereli D, Ertem E, Çapanoğlu R. İn vitro fertilizasyon programına başvuran olgularda tubal faktör ile klamidya seropozitivitesi arasındaki korelasyon. *Kadın Doğum Dergisi* 1993; 9: 48-50.
- 42-Cohen I, Vielle JC, Calkins BM. Improved pregnancy outcome following successful treatment of chlamydial infection. *JAMA* 1990; 263: 3160-3163.
- 43-Dereli D, Çoker M, Ertem E, Serter D, Tanaç R, Tez E. Chlamydial infection in infants. *J Trop Pediatr* 1996; 42: 233-236.
- 44-Ağaçfıdan A. Chlamydia trachomatis'in laboratuvar tanısı. *Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar (CTBH)*, İstanbul 1999: 125-133.
- 45-Dereli D. Cell culture techniques in the diagnosis of chlamydial infections. *FEMS Workshop on Human Chlamydial Infections. Final program and Proceedings Book*. İzmir, May 12-16, 1997: 67-69.
- 46-Ertem E, Direct fluorescent Antibody test (DFA). *FEMS Workshop on Human Chlamydial Infections. Final program and Proceedings Book*. İzmir, May 12-16, 1997: 72-73.
- 47-Gencay M, Ağaçfıdan A. Cinsel temasla bulaşan hastalıkların laboratuvar tanısında kullanılan moleküler yöntemler. *Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar (CTBH)*. İstanbul, 1999: 431-444.
- 48-Stary A. Diagnosis of genital chlamydia trachomatis infections. *Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki-Finland, August 20-23, 2000*: 61-64.
- 49-Mathony JB, Chernesky MA. Leucocyte esterase urine strips for the screening of men with urethritis-use in developing countries. *Genitourin Med* 1994; 70:3.
- 50-Sellers JW, Walter SD, Howard M. A new visual indicator of chlamydia cervicitis. *Sex Transm Inf* 2000; 76: 46-48.

- 51-Centers for Disease Control and Prevention. Morbidity and Mortality weekly Report, vol:42, no:RR12. Recommendations for the prevention and management of chlamydia trachomatis infections, 1993.
- 52-Ridgway G. Management of chlamydia trachomatis genital infections. Intracellular Bacterial Infections, Cambridge Med Pub, 1st. ed. 1996: 59-64.
- 53-Ridgway G. Treatment of chlamydia trachomatis infections. Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia Research, Helsinki-Finland, August 20-23, 2000: 387-390.
- 54-Ertem E. Chlamydia trachomatis enfeksiyonlarının tedavisi. Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar (CTBH). İstanbul, 1999: 135-140.
- 55-Ridgway G. Antibiotic management of chlamydial genital infections. FEMS Workshop on Human Chlamydial Infections. Final program and Proceedings Book. İzmir, May 12-16, 1997: 38-41.
- 56-Stein GE: Mummaw NI, Havlicek DH. Pharmacotherapy 1995; 15: 727-731.
- 57-Ward ME. An update of the immunology of chlamydial infections. Proceedings of the Third Meeting of the European Society for Chlamydial Research. Vienna-Austria, september 11-14, 1996: 58-62.
- 58-Stamm WE, Hicks JB, Martin DH et al. J Am Med Assoc. 1995; 274: 545-9.
- 59-Bonnez W In Clinical Virology Richman DD, Whitney RJ, Hoyden FG. Churchill Livingstone. New York 1997; 13: 569.
- 60-Kiviat NB, Koutsky LA: Human Papillomavirus: P. Murray et al. Manual of Clinical Microbiology ASM Pres. Washington DC 1995: 1082
- 61-Schiffman MH: Epidemiology of cervical human papillomavirus infections. Curr Trop Microbiol Immunol. 1994; 186: 55.
- 62-Oriel JD: Anal warts and anal coitus. Br J Vener Dis. 1971; 47: 373.

- 63-Gutman LT, St Claire KK, Everett VD. Cervical-vaginal and intra-anal human papilloma virus infections of young girls with external genital warts: J Infect Dis, 1994; 175: 339
- 64-Lina Villa L: Human papillomaviruses and cervical cancer. Adv. Cancer Res. 1997; 321
- 65-Tuncer S, Ustaçelebi ř: Servikal biyopsi örneklerinde insan papillomavirusları tip 16 ve 18'in polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanması. Flora 1996; 1: 40
- 66-Ustaçelebi ř: İnsan papillomavirus infeksiyonlarının laboratuvar tanısı. Cinsel temasla bulaşan hastalıklar. Eds Aafıdan Türk. Mikr. Cem. Yay. No: 35, 1999, 339.
- 67-Park RS, Kurman RJ, Keissis TD, Shah KV: Comparison of peroxidase labelled DNA probes with radioactive RNA probes for detection of human papillomaviruses by in-situ hybridization in parafın sections. Med Pathol. 1991; 4: 81
- 68-Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 6 th ed. International edition: Mosby and WB Saunders, 2001: 119-129.
- 69-Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. Parslow TG, Stites DP, Terr AI. Medical immunology. 10. Baskı. International edition, the McGraw-Hill Company, 2001: 148-166
- 70-Gner İ, zmen D, Bayındır O. Sitokinler. Türkiye Klinikleri tıp Bilimleri. 1997; 17: 65-74.
- 71-Kokuludağ A. Sitokinler. Gmřdiř G, Doėanavřargil E. Klinik Romatoloji. İstanbul: Deniz matbaası, 1999: 39-46.
- 72-Rajasekaran M, Hellström WJG, Naz RJ, Sika SC. Oxidative stres and interleukins in seminal plasma during leukocytospermia. Fertil Steril. 1995; 64: 166-171.

- 73-Comhaire F, Bosmans E, Ombelet W. Cytokines in semen of normal men and of patients with andrological disease. *Am J Reprod Immunol.* 1994; 31: 99-103.
- 74-Huleihel M, Potashink G, Lunenfeld E, Glezerman M, Levy A. Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertil and infertil men. *Fertil Steril.* 1996; 66: 135-139.
- 75-Dousset B, Hussenet F, Duadin M, Bujan L, Foliguet B, Nabet P. Seminal cytokine concentrations (IL-1 β , IL-2, IL-6, sR IL-2, sR IL-6), semen parameters and blood hormonal status in male infertility. *Hum Reprod.* 1997; 12: 1476-1479.
- 76-Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology.* 4.th ed, USA: Saunders Company, 2000: 235-269.
- 77-Kılıçturgay K. Sitokinler. *İmmünoloji* 2000. 2. Baskı, Bursa:Güneş Nobel, 2000; 175-215.
- 78-Bendtsen K, Hansen MB, Ross C, Svenson M. High avidity autoantibodies to cytokines. *Immunology Today*, 1998; 19: 209-211.
- 79-Saltoğlu N, Özgünen FT, Çetiner S ve diğ.,Erken travaydaki gebelerde endoservikal Chlamydia trachomatis infeksiyonunun enzim immun assay (eia) ile belirlenmesi. *İnfeksiyon dergisi*, 11, 4. 1997: 341-344.
- 80-Maniatis T, Fritsch EF: *Molecular Cloning: A laboratory Manual*, p. 1334. In Sambrook J (ed). 1990, third ed. Cold Spring Harbor, New York.
- 81-Nieschlag E. And Behre H (eds). *Andrology. Male Reproductive Health and Dysfunction.* Springer, Berlin, 1997.
- 82-Purvis K and Christiansen E. The impact on infection on sperm quality. *Hum Reprod.* 1996, 11: 31-41.
- 83-Keck C, Gerber-Shafer C, Clad A. et al. Seminal tract infections:Impact on male fertility and treatment options. *Human Reprod.* 1998, 4: 891-903.

- 84-Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ (1998) Evaluation of spectrophotometric assay for measurement of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals in human spermatozoa relationships with semen quality and sperm function. *Int J Androl* 21:81–94.
- 85-Bals-Pratsch M, Dören M, Karbowski B et al. Cyclic corticosteroid immunosuppression is unsuccessful in the treatment of sperm antibody-related male infertility. *Hum Reprod* 1992; 7: 99-104
- 86-Update on the impact of chlamydia trachomatis infection on male infertility *Andrologia* 36, 1-23 (2004)
- 87-Lombardo F, Gandini L, Alfaro P, Anticoli-Borza L, Fabbri G, Lenzi A (1990) Male genito-urinary tract infection caused by *Chlamydia trachomatis* and seminal characteristics use of minocycline. *Arch Ital Urol Nefrol Androl* 62:47–53
- 88-Erbengi T (1993) Ultrastructural observations on the entry of *Chlamydia trachomatis* into human spermatozoa. *Hum Reprod* 8:416–421.
- 89-Quinn TC, Gaydos C, Shepherd M. et al. Epidemiologic and microbiologic correlates of *Chlamydia Trachomatis* infection in sexual partnerships. *J Am Med Assoc.* 1996, 276: 1737-42.
- 90-Gdoura R, Keskes-Ammar L, Bouzid F, Eb F, Hammami A, Orfila J (2001) *Chlamydia trachomatis* and male infertility in Tunisia. *Eur J Contracept Reprod Health Care* 6:102–107.
- 91-Rietmeijer CAM, Judson FN, van Hensbroek MB, Ehret JM, Douglas JM (1991) Unsuspected *Chlamydia trachomatis* infection in heterosexual men attending a sexually transmitted diseases clinic: evaluation of risk factors and screening methods. *Sex Transm Dis* 18:28–35.

- 92-Lechner BL, Baker JA, Chastain DO, Cuda SE, Lynch J (2002) The prevalence of asymptomatic *Chlamydia trachomatis* in military dependent adolescents. *Mil Med* 167:600–601.
- 93-Hosseinzadeh S, Eley A, Allan A Pacey: Semen Quality of Men With Chlamydial Infection. *J Andrologia* Jan/Feb 2004; 25:104-109
- 94-Bezold G, Politch JA, Kiviat NB, Kuypers JM, Wolff H, Anderson DJ. Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. *Fertil Steril*. 2007 May;87(5):1087-97. Epub 2007 Apr
- 95-İrez T, Alici B, Özkara H, Akkuş E, Yencilek F, Öcal P, Özalp AU, Hattat H. The effect of *Ureaplasma urealyticum* and *Chlamydia trachomatis* infections to the semen parameters. *Cerrahpaşa J Med* 2000; 31 (1): 23-27.
- 96-Gregoriou O, Botsis D, Papadias K, Kassanos D, Liapis A, Zourlas PA (1989) Culture of seminal fluid in infertile men and relationship to semen evaluation. *Int J Gynaecol Obstet* 28:149–153.
- 97-Ruijs GJ, Kauer FM, Jager S, Schroder PF, Schirm J, Kremer J (1990) Is serology of any use when searching for correlation between *Chlamydia trachomatis* infection and male infertility? *Fertil Steril* 53:131–136.
- 98-Purvis K, Christiansen E (1993) Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. *Int J Androl* 16:1–13.
- 99-Eggert-Kruse W, Buhlinger-Goßpfaht N, Rohr G, Probst S, Aufenanger J, Naher H, Runnebaum B (1996) Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in semen and relationship with parameters of male fertility. *Hum Reprod* 11:1408–1417.

- 100-Habermann B, Krause W (1999) Altered sperm function or sperm antibodies are not associated with chlamydial antibodies in infertile men with leucocytospermia. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 12:25–29.
- 101-Diquelou JY, Pastorini E, Feneux D, Gicquel JM (1989) The role of *Chlamydia trachomatis* in producing abnormal movements by spermatozoa. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 18:615–625.
- 102-Maciejewski Z, Dziecielski H, Swierczynski W, Semmler G (1989b) Morphological semen changes in *Chlamydia trachomatis* infections. *Ginekol Pol* 60:314–317.
- 103-Lombardo F, Gandini L, Alfaro P, Anticoli-Borza L, Fabbri G, Lenzi A (1990) Male genito-urinary tract infection caused by *Chlamydia trachomatis* and seminal characteristics use of minocycline. *Arch Ital Urol Nefrol Androl* 62:47- 53
- 104-Wolff H, Neubert U, Zebhauser M, Bezold G, Korting HC, Meurer M (1991) *Chlamydia trachomatis* induces an inflammatory responses in the male genital tract and is associated with altered semen quality. *Fertil Steril* 55.1017–1019.
- 105-Greendale GA, Haas ST, Holbrook K, Walsh B, Schachter J, Phillips RS (1993) The relationship of *Chlamydia trachomatis* infection and male infertility. *Am J Public Health* 83:996– 1001.
- 106-Samra Z, Soffer Y, Pansky M (1994) Prevalence of genital chlamydia and mycoplasma infection in couples attending a male infertility clinic. *Eur J Epidemiol* 10:69–73.
- 107-Kadar A, Bucsek M, Kardos M, Corradi G (1995) Detection of *Chlamydia trachomatis* in chronic prostatitis by in situ hybridization (preliminary methodical report). *Orv Hetil* 136:659–662.

- 108-Witkin SS, Kligman I, Bongiovanni AM (1995) Relationship between an asymptomatic male genital tract exposure to *Chlamydia trachomatis* and an autoimmune response to spermatozoa. *Hum Reprod* 10:2952–2955.
- 109- Radouani F, Bennani A, Takourt B, Hda N, Ibrahimi S, Boutaleb Y, Guinet R, Benslimane A (1996) Chlamydial infections and male infertility in Morocco. *Contracept Fertil Sex* 24:779–783.
- 110-Xiang Y, Chen Q (1996) Study on infertility caused by infections of *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum*. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 31:223–225.
- 111-Yu P, Zhang L, Dai H, Cha G, Sun Y, Shu M (1998) Research in the relationship between *Chlamydia* and *ureaplasma* and infertility. *Human Yi Ke Da Xue Xue Bao* 23:67–69.
- 112-Rezacova J, Masata J, Pribylova M, Drazdakova M (1999) *Chlamydia trachomatis* in men with impaired fertility. *Ceska Gynecol* 64:317–315.
- 113-Soffer Y, Ron-EI R, Golan A, Herman A, Caspi E, Samra Z (1990) Male genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis* culture: its relationship with accessory gland function, sperm quality, and autoimmunity. *Fertil Steril* 53:331–336.
- 114-Nalbanski B, Borisov I, Slavkova V, Filipov E (1999) The effect of chlamydial infection on tubal potency. *Akush Ginekol (Sofia)* 38:22–24.
- 115-Eggert-Kruse W, Rohr G, Demirakca T, Rusu R, Petzoldt D, Runnebaum B. (1997) *Chlamydia* serology in 1303 asymptomatic subfertile couples. *Hum Reprod* 12:1464–1475.
- 116-Gregoriou O, Vitoratos N, Papadias C, Gregoriou G, Zourlas PA (1989) The role of chlamydial serology in fertile and subfertile men. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 30:53–58.

- 117-Czegledy J, Szarka K. Detection of high-risk HPV DNA in semen and its association with the quality of semen. *Int J STD AIDS*. 2006; Mar; 17(3): 211-2
- 118-Marie-Noelle Didelot-Rousseau, François Diafouka, Eric Yayo, Luc-Philippe Kouadio, Dagui Monnet, Michael Segondy. HPV seminal shedding among men seeking fertility evaluation in Abidjan, Ivory Coast. *J Clin Virology* 39 (2007) 153-155.
- 119-Olatunbosun O, Deneer H, Pierson R. Human papillomavirus DNA detection in sperm using polymerase chain reaction. *Obstet Gynecol*. 2001 Mar; 97(3):357-60
- 120-Volker Rohde et al: Detection of adeno-associated virus in human semen: Does viral infection play a role in the pathogenesis in male infertility? *Fertil Steril* Nov 1999, vol:72 No:5
- 121-Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M: İnterlökin-ler. *T Klin Med Sci*. 18: 77-81, 1998.
- 122-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.
- 123-Wolff H: The biological significance of white blood cells in semen. *Fertil Steril*. 63: 143-1157, 1995.
- 124-Eggert-Kruse W, Boit R, Rohr G, Aufenanger J, Hund M, Strowitzki T. Relationship of seminal plasma interleukin (IL) -8 and IL-6 with semen quality. *Hum Reprod* 2001; 16: 517-528
- 125-Friebe K, Bohring C, Skrzypek J, Krause W: Levels of interleukin-6 and interleukin-8 in seminal fluid of men attending an andrological clinic. *Andologia* 2003; 35: 126-129.

- 126-Furuya Y, Akashi T, Fuse H. Soluble Fas and interleukins-6 and interleukin-8 levels in seminal plasma of infertile men. *Arch Androl* 2003; 49: 449-452.
- 127-Kocak I, Yenisey C, Dundar M, Okyay P, Serter M: Relationship between seminal plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor- α levels with semen parameters in fertile and infertile men. *Urol Res* 2002; 30: 263-267.
- 128-Matalliotakis I, Kriakou D, Fragouli I, Sifakis S, Eliopoulos G, Koumantakis E: Interleukin-6 in seminal plasma of fertile and infertile men. *Arch Androl* 1998; 41: 43-50.
- 129-Matalliotakis I, Kyriakou D, Fragouli Y, Ioutradis D, Goumenou A, Koumantakis E. Determination of interleukin-11 in seminal plasma and elevated IL-11 in seminal plasma of infertile patients with urogenital infection. *Arch Androl* 1998; 41:177-183.
- 130-Koumantakis E, Matalliotakis I, Kyriakou D, Fragouli Y, Relakis K: Increased levels of interleukin-8 in human seminal plasma. *Andrologia* 1998; 30: 339-343.
- 131-Okamura H, Tsutsi H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nukada Y, Hattori K, Akita K, Nambu M, Tanabe F, Konishi K, Fuduka S, Kuzimoto M: Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cell. *Nature* 1995; 378: 88-91.
- 132-Kohno K, Kurimoto M: interleukin 18, a cytokine which resembles IL-1 Structurally and IL-12 functionally but exerts its effect independently of both. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 86: 11-15.
- 133-Takeda K, Tsutsui H, Yoshimoto T, Adachi O, Yoshida N, Kishimoto T, Okamura H, Nakanishi K, Akira S: Defective NK cell activity and Th 1 response in IL-18 deficient mice. *Immunity* 1998; 8: 383-390.

134-Matalliotakis I, Çakmak H, fragouli Y, Kourtis A, Arici A, Huszar G: Increased IL-18 levels in seminal plasma of infertile men with genital trakt infection. Am J Reproductive Immunology 2006; 55: 428-433.

TEZ ONAY SAYFASI

Üroloji Anabilim Dalımız uzmanlık öğrencisi Dr.Tamer ÇALIŞKAN'ın “Fertil ve İnfertil Olgularda Seminal Plazma Chlamydia Trachomatis ve Human Papilloma Virus Enfeksiyonu Varlığı ile Seminal Sıvı Sitokinleri ve Sperm Parametrelerine Olan Etkisi” isimli tezi aşağıda isimleri yer alan jürimiz tarafından incelenerek başarılı bulunmuş ve kendisinin sınava alınmasına karar verilmiştir.

Başkan

Prof.Dr.Haluk EROL

Üroloji AD

Jüri Üyesi

Prof.Dr.Hakan GEMALMAZ

Üroloji AD

Jüri Üyesi

Prof.Dr.Mehmet DÜNDAR

Üroloji AD

Jüri Üyesi

Doç.Dr. İzzet KOÇAK

Üroloji AD

Jüri Üyesi

Doç.Dr.Yavuz

YENİÇERİOĞLU

İç Hastalıkları AD