



Araştırma Makalesi / Original Article

Normozoospermik Fertil Bireyler ile Oligozoospermik, Şiddetli-Oligozoospermik, Oligoastenoospermik, Azoospermik ve İdiyopatik Bireylerde Natural Killer Hücre Aktivitesinin Araştırılması

Investigation of Blood Natural Killer Cell Activity in Normozoospermic Fertile, Oligozoospermic, Severe-Oligozoospermic, Oligoastenoospermic, Azoospermic and Idiopathic Individuals

Mehmet Ferit Özmen^{a*}, Muhammet Afşin^b, Uğur Şeker^c, Dilek Yavuz^d, Muhammed Hanifi Bademkiran^e, İbrahim Halil Yıldırım^f, Ümüt Cirit^g

^a Doçent Doktor, Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

* İletişimden sorumlu yazar / Corresponding author, E-mail: ferit-ozmen@hotmail.com

^b Doktor, Diyarbakır Gazi Yaşargil Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Diyarbakır, Türkiye.

^c Doktor Öğretim Üyesi, Mardin Artuklu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Mardin, Türkiye.

^d Uzman Doktor, Diyarbakır Gazi Yaşargil Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Diyarbakır, Türkiye.

^e Doktor Öğretim Üyesi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Gaziantep, Türkiye.

^f Doçent Doktor, Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Genetik Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye.

^g Profesör Doktor, Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Adana, Türkiye.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 19.04.2023

Received in revised form: 22.05.2023

Accepted: 01.06.2023

Keywords:

Infertility

NK activity

Normozoospermia

Severe oligozoospermia

ABSTRACT

Introduction: Infertility is a health problem that negatively affects couples and society in many ways and is becoming increasingly common. It is estimated that 30-40% of these problems are caused by men.

Aim: It was aimed to determine whether natural killer (Natural Killer: NK) cell activity changes in male individuals with different degrees of infertility problems and in individuals with normal sperm count and concentration (normozoospermia). **Materials and methods:** NK cell activities were measured from blood samples taken from individuals who were determined to be oligozoospermia, severe-oligozoospermia, oligoastenoospermia, azoospermia and idiopathic as a result of semen analysis with from individuals diagnosed normozoospermia (n:120).

Results: NK cell activity in blood was observed as the lowest in normozoospermia (544.46 pg/ml), but the highest value measured in severe oligozoospermia group (1005.90 pg/ml). On the other hand, NK cell activity was measured 797.60 ± 428.55 pg/ml, 905.34 ± 430.60 pg/ml, 757.66 ± 541.16 pg/ml and 639.44 ± 385.50 pg/ml in oligozoospermia, oligoastenoospermia, azoospermia and idiopathic groups respectively. While the difference in NK activity between the severe oligozoospermia group and the other groups was significant (p<0.05), the differences between the other groups were not significant (p >0.05).

Conclusion: It was determined that NK cell activity was higher in individuals with severe oligozoospermia than normozoospermia, oligozoospermia, oligoastenoospermia, azoospermia and idiopathic individuals.

MAKALE BİLGİLERİ

Makale Geçmişi:

Geliş Tarihi: 19.04.2023

Revizyon Tarihi: 22.05.2023

Kabul Tarihi: 01.06.2023

Anahtar Kelimeler:

İnfertilite

NK aktivitesi

Normozoospermi

Şiddetli oligozoospermi

ÖZET

Giriş: İnfertilite çiftleri ve toplumu birçok açıdan olumsuz etkileyen ve gittikçe yaygınlaşan bir sağlık problemidir. Bu problemlerin %30-40'ının erkek kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir.

Amaç: Farklı derecelerde infertilite problemi olan erkek bireyler ile normal sperm sayısı ve konsantrasyonuna sahip bireylerde (normozoospermi) doğal öldürücü (Natural Killer: NK) hücre aktivitesinin değişip değişmediğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Sperma analizleri sonucu oligozoospermi, şiddetli-oligozoospermi, oligoastenoospermi, azoospermi ve idiopatik olduğu belirlenen bireyler ile normozoospermi teşhisi konan bireylerden (n:120) alınan kan numunelerinden NK hücre aktiviteleri ölçüldü.

Bulgular: Yapılan ölçümler sonucunda normozoospermi grubu en düşük değer (544.46 pg/ml) alırken şiddetli oligozoospermi grubundan en yüksek değer (1005.90 pg/ml) alınmıştır. NK hücre aktivitesi ise oligozoospermi, oligoastenoospermi, azoospermi ve idiopatik gruplarda sırasıyla 797.60 ± 428.55 pg/ml, 905.34 ± 430.60 pg/ml, 757.66 ± 541.16 pg/ml ve 639.44 ± 385.50 pg/ml olarak ölçüldü. Şiddetli oligozoospermi grubu ile diğer gruplar arasında NK aktivitesi farkı önemli (p<0.05) bulunurken diğer gruplar arasındaki farklar önemli bulunmamıştır (p >0.05).

Sonuç: İnfertilite derecesi şiddetli oligozoospermi olan bireylerde NK hücre aktivitesinin normozoospermi, oligozoospermi, oligoastenoospermi, azoospermi ve idiopatik gruplarından daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

1. Giriş

İnfertilite, üreme çağındaki bir çiftin bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkisine rağmen gebeliğin oluşmamasıdır. Daha önce hiç gebelik oluşmamış ise primer infertilite, en az bir gebelik yaşanmışsa sekonder infertilite olarak tanımlanır (1,2). İnfertilitenin reproduktif çağıdaki çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkileyen bir faktör olduğu bilinmektedir (3). İnfertilite çiftlerde %30-40 erkeğe bağlı, %40-50 kadına bağlı, %10-15 erkek ve kadın ilişkili, %10-15 bilinmeyen nedenlerden meydana gelir (4). Yıllar itibarıyla dünya erkek nüfusunda infertilite oranı artmakta ve iyileşme eğilimi göstermemektedir (5,8). Erkek infertilitesinin nedenleri tam açıklanamamakla beraber en sık nedenleri genitoüriner malformasyonlar, genetik bozukluklar, erkek üreme sisteminin doğuştan gelen hastalıkları (kriptorşidizm, monorşizm, fimozis ve hipospadias), varikosel, nöroendokrin bozukluklar, kronik stres, travmalar, yaşam tarzı faktörleri (alkol, sigara, uyuşturucu bağımlılığı), testis tümörleri ile üreme sisteminin enfeksiyöz hastalıklarıdır (8,20). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), semen analizi sonuçlarının değerlendirilmesini aspermi, hipospermi, hiperspermi, hematospermi, azospermi, kriptozoospermi, oligozoospermi, astenozoospermi, teratozoospermi, astenoteratozoospermi, oligoastenozoospermi, oligoastenoteratozoospermi, oligoteratozoospermi, nekrozoospermi ve normozoospermi şeklinde tanımlamıştır (21). DSÖ, şiddetli oligozoospermi ile ilgili bir tanımlama yapmadığı için bu durum farklı şekilde tanımlamaların yapılmasına neden olmuştur. Bazı araştırmacılar şiddetli oligozoospermiyi sperm sayısının 5 milyon/ml'nin altında olması şeklinde değerlendirmiştir (22,24).

Natural Killer (NK) hücreleri lenfositlerin B ve T hücrelerinden ayrı olarak var olan doğal öldürücü hücreleridir (25). Bu hücreler kemik iliğinden köken alırlar ve dalakta yoğun olarak bulunurlar. Dalak dışındaki diğer lenfoid dokularda (timus, tonsiller, lenf düğümleri, peyer plaklarında) az sayıda bulunurlar (26). NK hücrelerinin toplam lenfositler içerisindeki oranı %4-15 arasında değişmektedir (27). NK hücreleri doğal immünitinin en önemli hücreleridir. Yabancı antijenlere karşı ilk basamak savunmada görev alırlar. NK hücreleri, enfekte olmuş ya da malign transformasyona uğramış hücreleri, hücre aracıli sitotoksitesite ve antikor aracıli hücreli sitotoksitesite ile lizise uğratabilirler (28). Bunun yanında bazı enfeksiyon ajanlara karşı dirençte (*Rickettsia rickettsii*, *Cryptococcus neformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Toxoplasma gondii*, *Trypanosoma cruzi*) (29), hematopoietik progenitor ve lenfoid hücre büyümesi ve fonksiyonlarında, çeşitli sitokinlerin üretiminde, allograft atılımının düzenlenmesinde, akut veya kronik Graft Versus Host Hastalığı (GVHD) patogenezinde rol aldıkları bildirilmiştir (26).

Yaptığımız literatür taramasında infertilite problemi olan erkek bireylerde infertilitenin derecesi ve NK aktiviteleri arasında ilişki araştıran bir çalışma bulunamamıştır. Sunulan çalışmada Diyarbakır ilinde 3. basamak sağlık hizmeti veren bir hastaneye infertilite şüphesiyle başvuran erkek bireylerden DSÖ kriterlerine göre yapılan semen analizi sonucu normozoospermi, oligozoospermi, oligoastenozoospermi, idiopatik, azospermi ve şiddetli-oligozoospermi (22,24) tanısı alan bireylerde NK hücre aktivitesi ölçümleri yapılarak; NK hücre aktivitesi ve erkek infertilitesi arasında bir ilişkinin bulunup bulunmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Gereç ve Yöntem

2.1. Dokuların toplanması

Bu çalışmada, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum Kliniğine infertilite şüphesi ile başvuran yaş aralığı 20 ile 45 yıl arasında değişen 120 bireye çalışma hakkında bilgi verilerek gönüllü onam formu dolduruldu ve hastalara imzalatıldı.

2.2. Semen analizi

Hastalardan alınan semen örneklerindeki spermatozoonlar likefiye olduktan sonra DSÖ kriterleri esas alınarak makler kamera ile ışık mikroskopunda değerlendirildi. Öncelikle semen örneği pipeti ile pipetlenerek homojenize olması sağlandı. Sayı ve hareket için pipetle yaklaşık 10 µl semen makler kamerasına yerleştirildi ve üzerine cam kapağı kapatıldı. Işık mikroskopunda X20'lik objektifle 10 karedeki spermatozoonlar sayıldı ve sonuç milyon (10⁶) olarak ifade edildi. Spermatozoon sayımı, sırasıyla ileri doğru hızlı ve yavaş hareketli spermatozoonlar, daha sonra yerinde hareketli ve hareketsiz spermatozoonlar olarak sayıldı ve kaydedildi. Semen analizi sonucu normozoospermi, oligozoospermi, şiddetli-oligozoospermi, oligoastenozoospermi, azospermi ve idiopatik tanısı konulmuş 20'şer erkek bireyden oluşan 6 çalışma grubu belirlendi.

2.3. ELISA analizi

NK aktivitesi için bireylerden alınan ve özel tüplere konulan 1 ml kan 1 gün boyunca 36 °C'de inkübe edildi. 3.000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı 1,5 ml ependorf tüpler içerisine konularak -20 °C'de saklandı. Numunelerin tamamı toplandıktan sonra NK aktivasyon kiti (NKMAX, Code:ATGKF008, Lote:19007F) kullanılarak ELISA yöntemiyle sonuçlar değerlendirildi.

2.4. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz için non-parametrik Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında çoklu karşılaştırmada Tamhane's T2

testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama \pm SS şeklinde gösterildi ve $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

2.5. Etik kurul onayı

Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu ilkeleri gözetilerek uygulandı. Çalışmaya başlamadan önce Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun onayı alındı (Tarih: 14.02.2019, Karar No: 64).

3. Bulgular

Çalışma gruplarımızın NK hücre aktiveleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde en düşük NK aktivitesinin normozoospermi grubundan elde edildiğini; bu grubu idiopatik azospermi, oligozoospermi, oligoastenoospermi gruplarının takip ettiği görülmektedir. Ancak bu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Şiddetli oligozoospermi grubu en yüksek NK aktivitesine sahip grup olmuştur. Bu grubumuz ile diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 1. Normozoospermi, oligozoospermi, şiddetli-oligozoospermi, oligoastenoospermi, azospermi ve idiopatik gruplarında NK hücre aktivite değerleri

	Kişi Sayısı (n)	Ortalama \pm SS (pg/ml)
Normozoospermi	20	544.46 \pm 264.42 ^a
Oligozoospermi	20	797.60 \pm 428.55 ^a
Şiddetli oligozoospermi	20	1005.90 \pm 745.39 ^b
Oligoastenoospermi	20	905.34 \pm 430.60 ^a
Azospermi	20	757.66 \pm 541.16 ^a
İdiyopatik	20	639.44 \pm 385.50 ^a
Toplam	120	775.07 \pm 503.25 ^a

Kruskal Wallis ve Tamhane's T2 testi SS: Standart sapma^a^b $p < 0.05$

4. Tartışma

NK hücrelerinin moleküler mekanizmalarının ortaya çıkarılması, erkek kısırlığının immüнопatolojik mekanizmalarının analiz edilmesinde ve erkek üreme sağlığı için etkili aşuların tasarlanması ve geliştirilmesinde yardımcı olacaktır ancak NK ve spermatozoa fonksiyonu arasındaki ilişki hakkında çok az veri mevcuttur (30). Çalışmamızın verileri incelendiğinde en düşük NK aktivite değerinin normozoospermi grubundan elde edilmiş olması, infertilite durumunda NK aktivitesinin arttığını göstermektedir. Normozoospermi, oligozoospermi, oligoastenoospermi, azospermi ve idiopatik grupları ile şiddetli oligozoospermi grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p < 0.05$). Narayanan ve Ashalatha (2021), şiddetli oligozoospermi olgusunun %11,3'ünde kromozomal anormallikler saptandığını bildirmişlerdir. Yani şiddetli oligozoospermi vakalarının %88,7'sinin nedeni genetik dışı faktörlerdir. Gong ve ark. (2021), insanlarda enfeksiyondan sonraki kronik enflamasyon sırasında bile, seminifer epitelini tahrip olmaya

devam ettiğini ve testislerde spermatogenezin bozulduğunu bildirmişlerdir. Erkek genital sisteminin yangılanması sadece enfeksiyonla değil, aynı zamanda testis kanseri, travma, toksik ajanlar, varikozel, kriptorşidizm ve sistemik otoimmün hastalıklar dahil olmak üzere germ hücrelerine zarar veren diğer olaylar veya hastalıklarla da ilişkilidir. Hasarlı seminifer epitel veya spermatozoadan yüksek düzeyde immünojenik antijenlerin sürekli salınımı, otoimmün orşit, steril epididimit ve otoimmün prostatit dahil olmak üzere spermatik antijenlere karşı normal toleransı bozabilir (30). Dolayısıyla NK hücre aktivitesinin şiddetli oligozoospermi grubunda diğer tüm gruplardan yüksek olmasının sebebi, bu bireylerin sahip olduğu veya geçirmiş olduğu genital sistem enfeksiyonları olabilir. Duan ve ark. (2017), genital sistemlerinde kronik hastalığı olan bireylerin ejakülatlarında NK hücrelerinin bir alt tipi olan İNKT hücrelerinin yüzdesi ile sperm sayısı, motilite ve canlılık arasında negatif bir korelasyon bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda bu bilgiye uygun olarak normospermi grubundan en düşük NK aktivitesi belirlenmiş; ancak en yüksek NK aktivitesi azospermi grubundan değil, şiddetli oligozoospermi grubundan elde edilmiştir.

5. Sonuç

Çalışmamızdan sonuç olarak normozoospermi, oligozoospermi, şiddetli-oligozoospermi, oligoastenoospermi, idiopatik ve azospermi bireylerin kan numunelerinden yapılan NK hücre aktivitesi ölçümlerinde şiddetli oligozoospermi grubunun yüksek aktiviteye ($p < 0.05$) sahip olduğu; normozoospermi grubunun NK hücre aktivitesi değerinin tüm gruplardan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızın sonuçları dikkate alındığında, infertil bireylerin belirlenmesi ve tedavisinde NK hücre aktivitesinin kullanımı için kan, sperma ve genital organlardan alınabilecek diğer numunelerin birlikte çalışıldığı yeni çalışmaların faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

Çıkar Çatışması: Çalışmada herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansal Destek: Bu çalışma Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Onay no: Veteriner.19.007).

Etik Kurul Onayı: Bu çalışma Helsinki Deklarasyonu ilkeleri gözetilerek uygulandı. Çalışmaya başlamadan önce Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun onayı alındı (Tarih: 14.02.2019, Karar No: 64).

Yazarlık Katkısı:

MFÖ: Çalışmanın planlanması, laboratuvar çalışmaları, çalışma verilerini yorumlama, makale yazımı ve son kontroller.

MA: Çalışma materyallerinin toplanması ve laboratuvar çalışmaları, son kontroller.

UŞ: Çalışmanın planlanması, çalışma verilerini yorumlama ve makale yazımı, son kontroller.

DY: Çalışma materyallerinin toplanması ve laboratuvar çalışmaları, son kontroller.

MHB: Çalışma materyallerinin toplanması ve laboratuvar çalışmaları, son kontroller.

İHY: Çalışmanın planlanması, son kontroller.

ÜC: Çalışmanın planlanması, çalışma verilerini yorumlama ve makale yazımı, son kontroller.

Kaynaklar

1. Vayena E, Rowe P, Griffin P. Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a meeting on medical, ethical and social aspects of assisted reproduction, held at WHO Headquarters in Geneva, Switzerland. World Health Organization, 2002.
2. Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008;89(6):1603.
3. Garenne ML, Frish RE. Natural fertility. *Infertility Reproductive Med. Clin. North America*. 1994;5:159-282.
4. Gornel V, Urman B, Yarali H. Investigation of the infertile couple. Vaksel S, Beksac S, editors. Reproductive endocrinology and infertility medical network. Ankara:1993;143-55.
5. Shirshov VN. Current state of the male infertility problem: The review of European Association of Urology clinical guidelines. *J.Clin. Pract.* 2016;7:39-50. doi:[10.17816/clinpract7139-50](#)
6. Epanchintseva EA, Selyatitskaya VG, Mitrofanov IM, Pinkhasov BB, Sviridova MA. Antisperm antibodies under infertility in males, connection with abdominal obesity. *Adv. Curr. Nat. Sci.* 2015;4:24-27.
7. Dorofeev SD, Efremov EA, Simakov VV. Management of idiopathic pathospermia. Effective pharmacotherapy. *Urol. Nefrol.* 2015;2:24-30.
8. Xu F, Ye L, Hu Y, Cai C, Wang Z, Fan L, et al. A novel protein biochip screening serum anti-sperm antibody expression and natural pregnancy rate in a follow-up study in Chinese infertility. *Biosci. Rep.* 2020;40(2). doi:[10.1042/BSR20191769](#)
9. Silva CA, Cocuzza M, Carvalho JF, Bonfá E. Diagnosis and classification of autoimmune orchitis. *Autoimmun. Rev.* 2014;13:431-434. doi:[10.1016/j.autrev.2014.01.024](#)
10. Wald M. Male infertility: Causes and cures. *Sex. Reprod. Menopause.* 2005;3:83-87. doi:[10.1016/j.sram.2005.09.006](#)
11. Schmidt, AA, Zamyatnin SA, Gonchar IS, Korovin AE. Risk factors of the development of male infertility. *Clin. Pathophysiol.* 2019;25:56-60.
12. Avadieva NE. The use of DNA semen fragmentation in andrological practice. *Vestn. Urol.* 2019;7:7-11.
13. Likhonosov, NP, Ayub AK, Babenko A, Borovets S. The role of inhibin B in the regulation of spermatogenesis and its clinical significance in male infertility. *Urol. Vedom.* 2019;9:39-45. doi:[10.17816/uroved9139-45](#)
14. Apolikhin OI, Moskaleva NG, Komarova VA. Contemporary demographic situation and problems of improving the reproductive health of Russian population. *Exp. Clin. Urol.* 2015;4:4-14.

15. Lutov YV, Selyatitskaya VG, Epanchintseva EA, Ryabinchenko TI. The relationship between the andrological status of adolescents with anthropometric and hormonal parameters. *Hum. Physiol.* 2014;40:124-131.

doi:[10.1134/S0362119714040100](#)

16. Jiang Y, Cui D, Du Y, Lu J, Yang L, Li J, et al. Association of anti-sperm antibodies with chronic prostatitis: A systematic review and meta-analysis. *J. Reprod. Immunol.* 2016;118:85-91. doi:[10.1016/j.jri.2016.09.004](#)

17. Paoli D, Gilio B, Piroli E, Gallo M, Lombardo F, Dondero F, et al. Testicular tumors as a possible cause of antisperm autoimmune response. *Fertil. Steril.* 2009;91:414-419. doi:[10.1016/j.fertnstert.2007.11.084](#)

18. Joki-Korpela P, Sahrakorpi N, Halttunen M, Surcel HM, Paavonen J, Tiitinen A. The role of Chlamydia trachomatis infection in male infertility. *Fertil Steril.* 2009;91:1448-1450. doi:[10.1016/j.fertnstert.2008.06.051](#)

19. Hulusi BZ, Hakan Y. Antisperm antibodies: Fact or fiction? *Immunol. Allergy Clin. N. Am.* 2002;22:471-501. doi:[10.1016/S0889-8561\(02\)00010-3](#)

20. Kurpisz M, Havryluk A, Nakonechnyj A, Chopyak V, Kamieniczna, M. Cryptorchidism and long-term consequences. *Reprod. Biol.* 2010;10:19-35. doi:[10.1016/S1642-431X\(12\)60035-7](#)

21. Bozkırlı İ. Erkek infertilitesi. Bozkırlı, İ. (eds), Yeni Üroloji. Ankara: Türk Hava Kurumu Basımevi; 1999.

22. Yang C, Zhou ZH, Zheng DN, Xu XF, Haung J, Lian Y, Qiao J. Sperm origins and concentration do not impact the clinical outcomes in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Asian J of Androl* 2018;20:1-5. doi:[10.4103/aja.aja_27_18](#)

23. Usta A, Erdem E, Karacan M, Cebi Z, Uluğ M, Arvas A, et al. The effect of the sperm source on the outcome of intracytoplasmic sperm injection-embryo cycles in normal responder women. *Acta Med. Anatol.* 2016;4:2.

24. Mazzilli R, Cimadomo D, Vaiarelli A, Capalbo A, Dovere L, Alviggi E, et al. Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm injection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort study of 1,219 consecutive cycles. *Fertil Steril.* 2017;108(6):961-972. doi:[10.1016/j.fertnstert.2017.08.033](#)

25. Lydyard P, Grossi C. Cells involved in the immune response, In: Roitt IM, Brossotoff J, Male DK. (eds) Immunology. Forth edition. Spain. Mosby Com, 1996;2(2):2-14.

26. Lotzova E. Natural killer cells: İmmunobiology and clinical prospects. *Cancer İnvst.* 1991;9:173-84. doi:[10.3109/07357909109044228](#)

27. Tekeli A, Hatice Özenci H. Doğal öldürücü hücreler. *Flora.* 1997;2:138-145.

28. Öztürk ÖG. Doğal öldürücü hücre immunglobulin-benzeri reseptör genleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2011;20(3):131-144.

29. Pennarubia G, Koster F T. Antibacterial activity of human natural killer cells. *J Exp Med* 1989;169:99-113. doi:[10.1084/jem.169.1.99](#)

30. Duan YG, Gong J, Yeung WS, Haidl G, Allam JP. Natural killer and NKT cells in the male reproductive tract. *J. Reprod. Immunol.* 2020;103178. doi:[10.1016/j.jri.2020.103178](#)

31. Narayanan P, Ashalatha P. (2021). Prevalence of Abnormal Karyotypes among Males with Non-obstructive Azoospermia and Severe Oligozoospermia: A Retrospective Study. *J. Clin. Diagn. Res.* 2021;15(2):9-14. doi:[10.7860/JCDR/2021/47876.14568](#)

32. Gong J, Zeng Q, Yu D, Duan YG. T lymphocytes and testicular immunity: a new insight into immune regulation in testes. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(1):57. doi:[10.3390/ijms22010057](#)

33. Duan YG, Chen S, Haidl G, Allam JP. Detection of invariant natural killer T cells in ejaculates from infertile patients with chronic inflammation of genital tract. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2017;78(2);e12671. doi:[10.1111/aji.12671](#)