

ŞİDDETLİ ERKEK İNFERTİLİTESİ OLAN OLGULARDA ICSI YAPILAN VE FERTİL SPERMLERLE IVF YAPILAN KARDEŞ OOSİTLERDE EMBRİYO KALİTESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Ju-Fen Zheng^{1,2}, Xiao-Bao Chen², Lei-Wen Zhao², Min-Zhi Gao², Jie Peng¹, Xian-Qin Qu¹, Hui-Juan Shi¹, Xing-Liang Jin^{1,3}

¹China National Population and Family Planning Key Laboratory of Contraceptive Drugs and Devices, SIPPR, Shanghai, China; ²Department of Reproductive Medicine, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, China; ³Sydney Centre for Regenerative and Developmental Medicine, Kolling Institute for Medical Research, Sydney Medical School, University of Sydney, St. Leonards, NSW, Australia.

Azospermi, kriptozoospermi ve nekrospermisi olan erkeklerde, fertil kadınların gebe kalabilme şansı anlamlı olarak azalmaktadır. Fakat, bahsedilen ciddi problemleri bulunan erkeklerde intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tedavisi, bu hastalara biyolojik baba olabilme olanağı sağlayan bir seçenektir. Bu çalışma, bahsedilen şiddetli erkek infertilite nedenlerine sahip hastalarda kendi spermlerinden ICSI yapılması ile elde edilen fertilizasyon ve embryo kalitesi sonuçlarını, donör spermlerden IVF ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırmaktadır. Çalışmada, oosit toplama günü iki ejakulattan veya testiküler sperm ekstraksiyonu ile elde edilen ICSI için uygun spermler toplanan oosit sayısından az ise donör sperm ile IVF yapıldı. 72 çift (72 siklus), 1117 metafaz II oosit 512 ICSI ve 605 IVF siklusuna bölündü. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında, çalışma grubunda tüm alt gruplarda daha düşük fertilizasyon oranları bulundu (nonobstrüktif azospermi grubu: %65.4 vs % 83.2; $P < 0.001$), (kriptozoospermi grubu: %68.8 vs %75.5; $P < 0.05$), (nekrospermi grubu: %65.0 vs % 85.2; $P < 0.05$). Nonobstrüktif azospermi grubunda daha düşük klivaj embriyo oranı bulunmakta idi (%96.4 vs %99.4; $P < 0.05$), fakat iyi kaliteli embriyo oranları benzerdi. Kriptozoospermi ve nekrospermi gruplarında klivaj embriyo oranı ve iyi kaliteli embriyo oranları kontrol grubu ile benzerdi. Sonuç olarak, şiddetli erkek infertilitesinden elde edilen spermler daha düşük fertilizasyon yeteneğine sahip olsalar da, gelişen embriyolardaki gelişimsel özellikler gebelik için yol gösterici olabilir.

GİRİŞ

Tüm infertil çiftlerin %40 ila %50'si yardımcı üreme tekniklerine başvurmaktadır. Erkek infertilitesinin yaygın nedeni azalmış spermatogenez, sperm DNA hasarı, azalmış sperm hareketliliği ve anormal sperm morfolojisi ile karakterize semen kusurlarıdır. Klinik olarak sperm parametrelerinin ölçümü erkek fertilitésinin bir göstergesi olarak kullanılır ve infertilitenin tanı, sınıflandırma ve tedavi seçimi için yol gösterir.

İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) verimliliği birçok faktörden etkilenen son derece teknik beceri isteyen bir yöntem olmasına rağmen idiopatik infertil ve subfertil hastalarda klasik invitro fertilizasyona (IVF) göre fertilizasyon oranlarını arttırır. Azoospermi, kriptozoospermi ve nekrospermi başta olmak üzere şiddetli erkek infertilitesi durumlarında, ICSI infertil erkeklerin çocuklarının genetik babaları olmak için tek seçenek olabilir.

Nonobstrüktif azoospermisi olan hastalarda, obstrüktif azoospermisi olanlara nispeten daha az fertilizasyon ve biyolojik gebelik oranları olmasına karşın ICSI başarılı bir tedavi seçeneğidir.

Sunulan retrospektif çalışmada aynı hastadan elde edilen oositler üzerinde fertil donör spermleri ile yapılmış klasik IVF sonuçları ve şiddetli erkek infertilitesinden yakınan çiftlerden elde edilmiş spermlerle yapılan ICSI sonuçları karşılaştırılmıştır. ICSI yapılan grup; nonobstrüktif azospermisi olan ve testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ile sperm eldesi yapılan, kriptozoospermisi olan ve iki ejakülatının santrifüjünde birkaç sperm bulunan, nekrospermisi olan ve 90'dan fazla hareketsiz spermi olan üç gruba ayrılmıştır. Bu hastaların toplanan oosit sayılarına göre ICSI için uygun olan daha az sayıda sperm elde edilebilmiştir. Hastaların kendi eşlerinin spermleri ile ICSI yapılmış, donör spermleriyle de fazla oositlerine IVF yapılması için rızaları alınmıştır.

Bu çalışma ile kadın faktöründen bağımsız olarak, ağır erkek infertilitesinde ICSI kullanımının anlamı gösterilmektedir.

MATERYAL VE METOD

Şiddetli erkek infertilitesi nedeniyle tedaviye alınan 72 çift (73 siklus) çalışmaya katılmayı kabul etti. Oosit toplama günü, elde edilen metafaz II (MII) oosit sayısı ile karşılaştırıldığında hastaların iki ejakülatından veya TESE'den düşük sayıda ve tatminkar kalitede mikroenjeksiyon için uygun sperm elde edildi. Eğer yüksek sayıda kaliteli sperm kalitesi saptandıysa veya baştan donör sperm kullanımı yapıldıysa hastalar çalışmaya alınmadı. Çiftlerin ortalama 4.07 yıl infertilite öyküsü vardı ve kadınların ortalama yaşları 28,47 yıl, erkeklerin ortalama yaşları 31,42 yıl idi. Kadınların 9'unda geçirilmiş salpenjit dışında infertilite faktörleri yoktu. Erkeklerin tamamında normal karyotip saptandı, sadece 3 hastada AZFc mikrolezyonu saptandı. 28 hastada (28 siklus) obstrüktif azospermi dışlandıktan sonra nonobstrüktif azospermi tanısı konuldu ve sperm TESE ile elde edildi. Bu spermlerin çoğu malforme ve hareketsizdi. Kriptozoospermisi olan 34 hastada (34 siklus) ejakülatta ciddi düşük sperm konsantrasyonu ($<1 \times 10^4 \text{ ml}^{-1}$) mevcuttu. 10 hastada (11 siklus) nekrospermi saptandı. Kriptozoospermi ve nekrospermi tanısı alan hastalarda yeterli sperm elde edebilmek için iki ejakülat alındı. Bu örneklerde hareketli sperm bulunamayan 5 hastada sperm TESE ile elde edildi. Kadınlar gonadotropin salgılatıcı hormon / folikül stimüle edici hormon / insan koryonik gonadotropin (HCG) kullanılarak geleneksel tropik hiperovulasyon programına (THOP) alındı. Oosit toplama gününde öncelikle çiftlerin kendi spermleri ile ICSI yapılması tercih edildi. Sperm sayısı oosit sayısına göre yetersiz olan vakalarda ve isteyen çiftlerde donör sperm kullanılarak IVF yapıldı.

Embriyo transferinde çiftin eşinin sperminden geliştirilen embriyolara öncelik verildi. Eğer eşinin spermi ile elde edilen embriyo kalitesi düşükse, embriyoloğun değerlendirmesi ve daha önce yapılan resmi anlaşmaya göre donör sperminden elde edilen embriyo transfer edildi. Normalde her siklusta iki embriyo transfer edildi. Eğer kadın yaşı 35 den büyükse 3

embriyo transfer edildi. Her siklusta sadece aynı kaynaktan elde edilen embriyolar transfer edildi. Transferden iki hafta sonra idrarda HCG testi ile gebelik tespit edildi. Transferden dört hafta sonra ultrasonografi ile gestasyonel kese ve fetal kardiyak atımı tespit edildiğinde klinik gebelik doğrulandı.

İstatistiksel analiz SPSS for Window ile yapıldı. Fertilizasyon oranları embriyo bölünmesi, iyi kalitede embriyolar ikili lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi.

SONUÇLAR

72 çiftin, 73 siklusunda toplam 1281 oosit ve ortalama siklus başına 17,55 oosit elde edildi. Kardeş oositler herbir siklusta, eşin spermi ile ICSI ve kontrol için donör spermi klasik IVF yapılarak randomize edildi. Genel olarak 1117 MII oositten 512'sine mikroenjeksiyon ve 605'i klasik IVF uygulandı. Nonobstrüktif azospermi ($p < 0.001$), kriptozoospermi ($p < 0.05$) ve nekrospermi ($p < 0.01$) olan hastaların spermleri ile mikroenjeksiyon sonrası 2PN oluşturan oosit oranında önemli bir azalma saptandı. [Tablo 1]. Fertilize oositlerde 2.- 3. gün hücre bölünme oranı nonobstrüktif azospermi grubunda kontrol grubundan daha düşüktü ($p < 0.05$), kriptozoospermi ve nekrospermi grubunda benzerdi. ([Tablo 1]). Üç infertil grup arasında fertilize oosit oranı ve bölünmüş embriyolar arasında anlamlı bir fark yoktu. ($P > 0.05$). Embriyo transferi için embriyonik gelişimin temel dönüm noktası, in vitro 72 saat kültürden sonra iyi morfoloji ile elde embriyoların oranı oldu. İyi kalitede embriyoların oranı sperm kaynaklarından etkilenmedi ve aynı zamanda üç infertil grup kendi içinde benzerdi [Tablo 1].

Tablo 1: Kardeş oositler üzerinde eşin spermi ve donörün spermi ile dölleme ve embriyo gelişim oranları

	Azospermia		Cryptozoospermia		Necrospermia	
	Husband	Donor	Husband	Donor	Husband	Donor
Number of cycles	28	28	34	34	11	11
Number of oocytes	250	256	242	321	67	128
Number of MII oocytes	228	214	224	282	60	108
Fertilization						
Number	149	178	154	213	39	92
Rate (%)	65.4*	83.2	68.8**	75.5	65.0*	85.2
Cleavage						
Number	141	177	150	204	36	90
Rate (%)	94.6**	99.4	97.4	95.8	92.3	97.8
Good-quality embryo						
Number	76	95	70	99	18	44
Rate (%)	53.9	53.7	46.7	48.5	50	48.9

* $P < 0.001$; ** $P < 0.05$, compared to the rate of the corresponding donor control on sibling oocytes. MII: metaphase II

Embriyo transferi sonrası sonuçlar ayrı ayrı sunuldu. [Tablo 2]. Toplam olarak, 57 kadına (57 siklus) eşlerinin spermi ile elde edilen taze embriyolar transfer edildi ve ortalama 21 olguda gebelik oluştu. 2 olgu spontan abortus ile sonuçlandı. 19 kadın; 13 erkek ve 9 kız bebek olmak üzere canlı doğum yaptı. Yedi kadın (7 siklus) donör spermi ile oluşan taze embriyoların transferini kabul etti ve 3'ü gebe kaldı. Bir olgu spontan abortus ile sonuçlandı, 2 kadın 1 erkek ve 2 kız bebek olmak üzere canlı doğum yaptı.

Tablo 2: Embriyo transferi sonrası klinik sonuçlar

	Azospermia		Cryptozoospermia		Necrospermia	
	Husband	Donor	Husband	Donor	Husband	Donor
Embryo transfer						
Cycle	25	1	27	3	5	3
Average number	1.96	2.0	1.89	2.33	2.0	2.67
Pregnancy						
Number	9	0	11	2	1	1
Rate (%)	36.0	0	40.7	66.7	20.0	33.3
Delivery						
Number	8	0	10	1	1	1
Rate (%)	32.0	0	37.0	33.3	20.0	33.3

TARTIŞMA

Bu çalışmada oosit toplama gününde 2 ejakülatında hareketli sperm sayısı veya tesede iyi kalite sperm sayısı, oosit sayısından az olan hastalar seçildi. Bu çiftler eşlerinin sperm kalitesi hakkında bilgilendirildi ve donör sperm ile kalan yumurtalarına IVF uygulanması konusunda rızaları alındı. Bu retrospektif çalışmada nonobstrüktif azospermi olan hastalara ICSI tedavisi uygulandığında düşük oranda başarılı fertilizasyon ve tatminkar oranda iyi kalite embriyo ve düşük oranda embriyo bölünmesi gözlenmektedir. Bulgular ICSI tedavisi sırasında şiddetli erkek infertilitesi olan olgularda nispeten düşük oranda fertilizasyon olduğu fakat iyi kalite embriyo transferinin ve tatminkar gebelik ve canlı doğum oranlarının mümkün olduğunu göstermektedir.

Bazı kriptozoospermi ve primer nonobstrüktif azospermi hastalarından alınan iki ejakülatın incelenmesinde ICSI için uygun iyi morfolojili ve hareketli sperm bulunamamıştır. Benzer şekilde teratospermisi olan hastalardan çoğu zaman çok sayıda hareketsiz sperm elde edilebilmiştir. Bu klinik olarak anlamlı bir göstergedir, TESE prosedürleri ve testiküler sperm ilgili döllenme başarısızlığı önlenabilir.

Bu çalışmada donör spermi ile oluşturulan embriyo sayısının azlığına karşın 57 siklusa kendi eşinin spermiyle oluşan embriyo transferi yapılmıştır. Bu 57 hastada tatmin edici gebelik ve canlı doğum oranlarının olması, ağır erkek infertilitesinden muzdarip çiftlere kendi embriyoları ile biyolojik anne-baba olma şansı olduğunu göstermektedir.

Çok sayıda çalışma ağır infertilitede ICSI'nin umut verici olduğunu göstermesine karşın, konjenital anomalilerin ICSI tedavisinde IVF'den daha fazla olacağı endişesi varolmuştur. Bu çalışmanın asıl amacı öncelikle nonobstrüktif azospermi ve nekrospermi tanısı hastaların ICSI için nitelikli sperm arama yoluyla gebelik elde etmektir. Bireysel sperm kalitesini belirlenebilir ve ICSI için iyi bir kalitede sperm seçebilirse, bozulmuş sperm kaynaklı doğum kusurları önlenabilir. Buna ek olarak, blastosist transferi yoluyla, embriyolar elimine edilebilir ve daha iyi gebelik sağlanabilir.