

İmmatür Spermle Yapılan İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Ve Sonuçları: Olgu Sunumu

Ranan Gülhan Aktaş, Naciye Arat, Gülden Tunalı, Kenan Sofuoğlu, Arman Özdemir

Zeynep Kamil Kadın Ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Ve Araştırma Hastanesi

Adres :Zeynep Kamil Hastanesi tüp Bebek Merkeziüsküdar İstanbul – Türkiye

Cep: 05333992755 e-mail: ranagulhan@yahoo.com

ÖZET:

Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezlerinde en yaygın kullanılan yöntemlerden olan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) işlemi için olgun bir yumurtaya ve olgun bir sperm hücreğine ihtiyaç vardır. Anne ve baba adaylarından her zaman gelişimini tamamlamış oosit ve sperm elde edilememektedir. Bu durumlarda çiftlere yardımcı olabilmek amacı ile yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Çok az sayıda olguda; henüz gelişimini tamamlamamış spermatogenetik seri hücreleri ile ICSI işlemi yapılmış ve bunlardan da az oranda fertilizasyon ve gebelik elde edilebilmiştir. Merkezimize başvuran bir çiftte de; TESE dokusunda olgun sperm bulunamaması nedeni ile “elongated” spermatidlerle ICSI işlemi yapılmış ve sonuçlar bu olgu sunumunda tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Elongated spermatid, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, fertilizasyon, gebelik.

SUMMARY:

Intracytoplasmic Sperm Injection with Immature Sperms and Its Results: Case Report

A mature oocyte and a mature sperm are needed for intracytoplasmic sperm injection (ICSI), a common method which is used in Assisted Reproductive Technologies. There are recent studies for being able to develop the best method(s) for being to help to these couples. ICSI was done with immature spermatogenetic cells in several cases in past. However; fertilization and pregnancy rates were very low in these cases. This is a case report about a couple applied for infertility treatment to our center. “Elongated” spermatids were used for ICSI since mature sperm could not be found in tissue. The results are discussed in the study.

Key words: Elongated spermatid, intracytoplasmic sperm injection, fertilization, pregnancy.

GİRİŞ

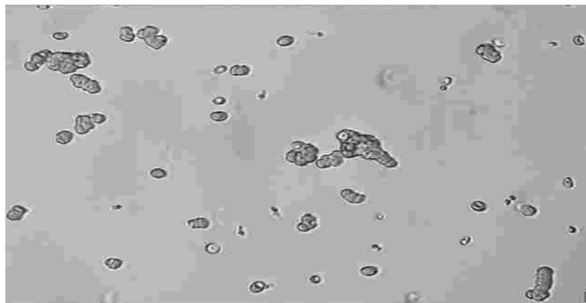
İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI); Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri’nde kullanılan başlıca yöntemdir. Anne adayından hastadan toplanan oositlere baba adayından alınan olgun spermelerin uygun bir mikroskop altında enjekte edilmesi esasına dayanır. Bu işlem için; olgun bir oosite ve olgun bir sperme ihtiyaç vardır. Gerekli olgun sperm hücresi her hastadan elde edilememekte; değişik cerrahi metodlarla (TESA, PESA, MESA, TESE, mikroTESE gibi) bu hücrelerin eldesine çalışılmaktadır. Bu cerrahi yöntemlerle olgun hücre elde edilebilen çok sayıda hastaya karşılık; bazı hastalarda ya hiç sperm bulunamamakta ya da henüz olgunlaşmamış erkek germ hücrelerine rastlanmaktadır. Sperm matürasyonunun yeterli olmadığı bu hastalarda başarılı fertilizasyon ve ardından gebelik gerçekleştiğine dair az sayıda yayına rastlanmaktadır. Bizim merkezimize başvuran bir hastamızdan da TESE yöntemiyle ancak

immatür sperm elde edilmiş, bu spermle yapılan ICSI işlemi sonrası gerçekleşen fertilizasyon ve sonuçları bu olgu sunumunda değerlendirilmiştir.

OLGU

39 yaşında kadın ve 36 yaşındaki erkek hastadan oluşan çift 6 yıllık infertilite öyküsü ile kliniğimize başvurdu. Kadın hastanın muayenesinde uterus normal, endline çizgi halinde, sol over 27-13 mm polikistik, sağ over 21-17.5 mm polikistik idi. HSG sonucu kavite homojen, her iki tuba açık, peritona geçiş serbestti. FSH: 6.02, E2: 31,28, LH:2,58, PRL:22.9, TSH: 0.862 idi. Erkek hastanın 2003 yılında yapılan sperm analizi sonuçları şu şekilde idi: Volüm: 5 cc, Likefaksiyon normal, Viskozite normal, pH: bazik, mikroskopik inceleme: canlı veya ölü sperme rastlanmamıştır. 2004 yılında testis biyopsisi

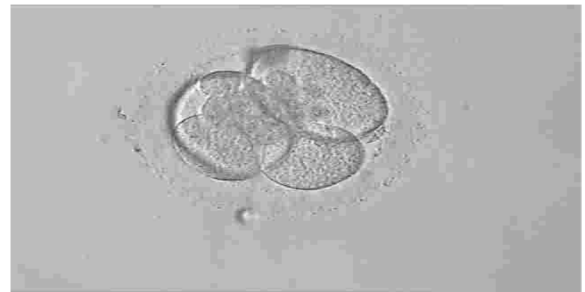
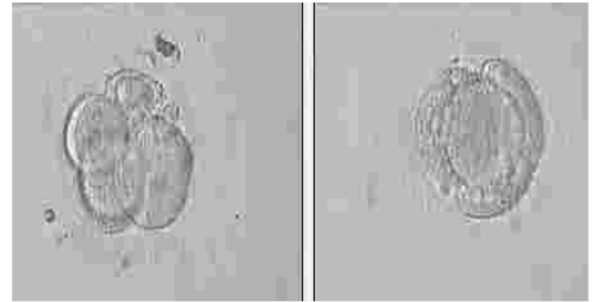
yapılan hastada; her iki testisten alınan örneklerde bazı duktuslarda spermatogenezis gözlemlendi. Spermatidlerin gelişiminin 1. ve 2. evrelerinde olduğu izlendi. 2007 yılında tekrarlanan spermiogram sonuçları ise şu şekildeydi: Volüm: 2 cc, Likefaksiyon normal, pH: bazik, Mikroskopik inceleme: Tüm sahada baş, boyun ve kuyruk anomalili 4-5 adet ölü spermatozoid görüldü. Yapılan incelemelerde kadın yaş faktörü ve erkek azospermi tanısının infertilite etkeni olduğu saptandı. Çift, konsey kararı ile invitro fertilizasyon programına alındı. Kadın hastaya ovülasyon indüksiyonu amacıyla gonadotropin olarak (recombinant FSH) 8 gün Puregon (Schering Plus- German), gonadotropin antagonisti olarak da 4 gün Orgalutran kullanıldı. Kadın hastanın ultrasonografi ile yapılan takiplerinde indüksiyonun 9. günü önde giden 3 folikülün 18 mm. ye ulaştığı görülünce hastaya 10 000 i.ü. HCG verildi. 36 saat sonra oosit toplama işlemi için hasta çağrıldı. Hastanın E2'si 1607pg/ml, endometrium kalınlığı ise 11mm ölçülmüştü. Erkek hastaya; oosit toplama işlemiyle aynı günde TESE işlemi uygulanarak lokal anestezi altında bilateral çok odaklı biopsi örnekleri alındı. Yapılan mikroskopik incelemede olgun spermatozoa görülemedi. Ancak spermatogenetik seriye ait değişik evrelerde, kısa kuyruklu, "elongated" immotil spermatozoalar bulundu. Elde edilen doku mini-gradyent yöntemiyle yıkanarak ICSI işlemi için hazırlandı. Kadın hastadan yumurtaların toplanması (Oosit Pick Up (OPU)) işlemiyle 7 adet matür (MII) oosit elde edildi. 2 saatlik inkübasyondan sonra bu oositler denudasyon yöntemiyle kumulus hücrelerinden temizlenerek ICSI işlemi uygulandı. Uygulama sırasında biopsiden elde edilen dokuda matür spermilere rastlanamadığından zorunlu olarak immotil, kısa kuyruklu, gelişim süreçlerini tamamlayamamış spermiler ("elongated" spermatid) kullanıldı (**Resim 1**).

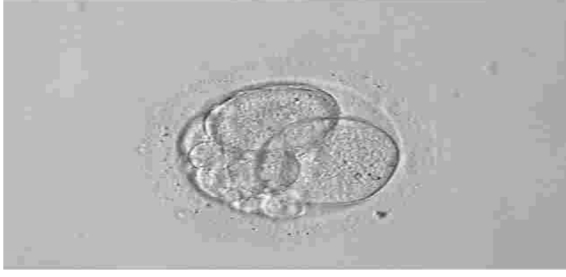


İşlemden 18 saat sonra yapılan rutin kontrolde 7 oositin 3'ünde fertilizasyon işareti olan 2'şer adet pronukleus görüldü (**Resim 2**).



İkinci gün kontrolünde embriyolardan birinin 2 hücreye (**Resim 3**), diğer ikisinin 4 hücreye (**Resim4**) bölündüğü saptandı. Üçüncü gün bu embriyolar sırası ile 6 hücre (**Resim5**), 4 hücre (**Resim6**) ve 3 hücre (**Resim7**) sayısına ulaştılar.





Bu 3 embriyonun zona pellusidaları transfer öncesi lazer kullanılarak inceltildi. Ardından ultrasonografi altında sorunsuz şekilde transfer edildi. Transferden 12 gün sonra kadın hastanın kan örneği alındı; β HCG düzeyinin yükselmediği ve gebeliğin gerçekleşmediği görüldü.

TARTIŞMA

İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI), diğer yardımcı üreme tekniklerinin yetersiz olduğu erkek infertilitesinde tercih edilen ve başarı oranı yüksek olan bir yardımcı üreme yöntemidir. Erkek infertilitesinde nonobstrüktif azospermi oldukça sık karşılaşılan sebeplerden biridir. Nonobstrüktif azospermi vakalarında, testiküler dokudan sperm elde etme yöntemi kullanılır (TESE). Bu yöntem ve ICSI birlikte kullanılarak nonobstrüktif azospermi vakalarının infertilite sorunlarının çözümünde ciddi yol katedilmesini sağlamıştır (1). Ancak testiküler doku örneğinden her zaman matürasyonunu tamamlamış sperm elde etmek mümkün değildir. Son zamanlarda nonobstrüktif azospermi vakalarında, spermatogenetik seriden matürasyonlarını tamamlamamış “round”, “elongating” ve “elongated” spermadidler kullanılmaya başlanmıştır. “Round” spermadidler diğer yuvarlak hücrelerden ayırd edebilmek oldukça zordur. Literatürde çok az sayıda ROSİ (round sperm injection) gebeliği bulunmaktadır. Ancak “elongated” ve “elongating” spermadidler ayırt etmek daha kolaydır ve bu hücreler spermiyogenezisin daha ileri aşamasında oldukları için fertilizasyon oranları ve gebelik bildirimleri nisbeten daha yüksektir. Tachibana ve ark. (2); deneysel çalışmalarında farklı gelişim aşamalarındaki spermle ICSI işlemi yapmışlar; ve işlem sonrası aster formasyonunu incelemişlerdir. Sırası ile olgun, elongated ve round sperm enjeksiyonları sonrası aster formasyonu oranlarını sırası ile %47, %27, ve

%0 olarak rapor etmişlerdir. Fertilizasyonun olgun olmayan spermle enjeksiyon sonrası düşük olmasının aster formasyonu ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Olgumuzda TESE dokusunda henüz gelişimini tamamlamamış, “elongated” spermadidler ile ICSI uygulaması yapıldı, Bu uygulama sonucu 3 embriyo geliştirildi, ancak gebelik elde edilemedi. Kahraman S. ve arkadaşları “elongated” ve “round” spermadidlerle yaptıkları çalışmada, ICSI işleminden sonra, fertilizasyon ve gebelik oranlarını incelemişlerdir. “Elongated” spermadidlerle fertilizasyon oranını %71, “round” spermadidlerle fertilizasyon oranını ise %25.6 bulmuşlardır. Her iki grupta, gebelik 23 olguda 3 olgu olarak saptanmış ve bunlardan sadece biri biyokimyasal gebelik olarak “round” spermadidle gerçekleşmiştir ve erken abortusla sonuçlanmıştır (3). Ghazzawi ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada, “round” spermadidlerle fertilizasyon şansının matür spermadidlerle yapılanaya göre çok daha düşük olduğunu belirtmişlerdir (4). Vicdan K. ve arkadaşları yaptıkları çalışmada testiküler ya da epididimal spermatozoa ile “round” spermadidler blastosist geliştirme sonuçlarına bakmışlardır. “Round” spermadid grubunda, spermatozoa grubuna oranla, embriyo arrestinin belirgin olarak yüksek, blastosist aşamasındaki embriyo ve iyi kalitedeki blastosist sayısının belirgin olarak düşük olduğunu saptamışlardır (5). Tachibana M. ve arkadaşları ise yaptıkları deneysel çalışmada tavşan oositlerine matür spermatozoa, “elongated” spermadid ve “round” spermadid enjekte etmişler ve sırasıyla %86, %30 ve %5 oranında oosit aktivasyonu gözlemlemişlerdir (6). Al-Hasani S. ve arkadaşları; dondurulup çözülmüş testis dokusundan elde ettikleri “round” spermadid ve “elongated” spermadidler başarı şansını araştırmışlardır. “Elongated” gruptan başarılı fertilizasyon, klivaj ve gebelik elde edilebileceğini, “round” gruptan ise fertilizasyon ve klivaj saptanırken gebelik elde edilemediğini göstermişlerdir (7). Yapılmış çalışmalar irdelendiğinde; “elongated” spermadidlerle gebelik şansı elde edilebilmesine karşın matür spermatozoalara oranla bu oranın oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bizim olgumuzda TESE dokusundan elde edebildiğimiz gelişimin bu evresindeki spermadidlerle fertilizasyon

gerçekleşmiş ancak gebelik oluşmamıştır. Bu hastalarda başarıyı arttırabilmek için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır. Olgu sayısı arttıkça ve spermatidlerin in vitro ortamda da gelişebilmesi sağlandıkça başarı şansının da değişebileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1- Devroey P, Liu J, Nagy Z, Goossens A, Tournaye H, Camus M, ve ark. *Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in nonobstructive azoospermia. Hum Reprod.* 1995; 10:1457-1460

2- Tachibana M, Terada Y, Ogonuki N, Ugajin T, Ogura A ve ark. *Functional assessment of centrosomes of spermatozoa and spermatids microinjected into rabbit oocytes. Mol Reprod Dev.* 2009 Mar; 76(3):270-7.

3- Kahraman S, Polat G, Samli M, Sözen E, Özgün O.D, Dirican K, ve ark. *Multiple pregnancies obtained by testicular spermatid injection in combination with intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod.* 1998;13:104-110

4- Ghazzawi IM, Alhasani S, taher M, Sousa S. *Reproductive capacity of round spermatids compared with mature spermatozoa in a population of azoospermic men. Hum Reprod.* 1999; Mar; 14(3):736-740

5- Vicdan K, Isık A.Z, Delilbasi L. *Development of blastocyst-stage embryos after round spermatid injection in patients with complete spermiogenesis failure. J Assist Reprod Genet.* 2001; Feb; 18(2):78-86

6- Tachibana M, Terada Y, Ogonuki N, Ugajin T, Ogura A, Murakami T, ve ark. *Functional assessment of centrosomes of spermatozoa and spermatids microinjected into rabbit oocytes. Mol Reprod Dev.* 2009; Mar; 76(3):270-277

7- Al-Hasani S, Ludwig M, Palermo I, Küpker W, Sandmann J, Johannisson R, ve ark. *Intracytoplasmic injection of round and elongated spermatids from azoospermic patients: results and review. Hum Reprod.* 1999; Sep; 14 Suppl 1:97-107