

İn vitro fertilizasyon ve intrasitoplasmik sperm enjeksiyonu uygulanan hastalarda izole lökosperrinin tedavi sonuçlarına etkisi

Influence of isolated leukocytospermia on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection treatment outcomes

Şafak Olgan, Enver Kerem Dirican

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Antalya

Özet

Amaç: Oosit toplama günü semen örneklerinde rastlantısal olarak izole lökosperrini saptanan olguların in vitro fertilizasyon / intrasitoplasmik sperm enjeksiyonu (İVF/İCSİ) tedavi sonuçlarını değerlendirmek.

Gereç ve yöntem: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi'nde, Ocak 2015 ve Mart 2016 tarihleri arasında, İVF/İCSİ tedavisi uygulanmış hastalara ait bilgiler elektronik veri tabanı kullanılarak gözden geçirildi. Oosit toplama günü yapılan incelemede izole lökosperrini ($\geq 1 \times 10^6$ /mL) saptanan hastaların (n=70) belirlenmesinin ardından, indeks olguya en yakın dönemde oosit toplama işlemi gerçekleştirilmiş; kadın yaşı, metafaz 2 (M2) oosit ve önceki tedavi sayıları eşleştirilmiş ancak lökosperrini saptanmayan ($< 1 \times 10^6$ /mL) hastalar (n=70) seçilerek kontrol grubu oluşturuldu. Fertilizasyon oranları, embriyo kaliteleri ve gebelik sonuçları gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular: Gruplar arasında M2 oosit ve 2-pronuclei ortalamaları benzer bulundu ($p > 0.05$). Ancak fertilizasyon oranının lökosperrini grubunda daha düşük olduğu saptandı (%61.4 ve %69.7, $p = 0.012$). Klivaj evresi (2-3. gün) yüksek kalite embriyo sayıları ve fertilize oositten yüksek kalitede klivaj embriyo gelişim oranı benzer bulundu ($p > 0.05$). Hasta başına yüksek kalitede blastokist sayısı ve yüksek kaliteli klivaj evresindeki embriyolardan yine yüksek kaliteli blastokist gelişim oranında istatistiksel farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Buna karşılık, total fertilizasyon başarısızlığının (%14.3 ve %2.9, $p = 0.016$) ve siklus iptallerinin (%34.3 ve %17.1, $p = 0.020$) lökosperrini grubunda daha sık olduğu saptandı. Gebelik sonuçları incelendiğinde, kontrol grubunda siklus başına pozitif beta-insan koryonik gonadotropin (β -hCG) oranı daha yüksek bulunmasına karşın ($p = 0.033$), embriyo transferi başına pozitif β -hCG ve klinik gebelik oranlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p > 0.05$).

Sonuç: Lökosperrini fertilizasyonu etkileyebileceğinden total fertilizasyon başarısızlığına ve siklus iptallerine neden olabilir. Ancak, fertilizasyonun sağlıklı şekilde gerçekleşmesi halinde embriyo kalitesinin ve gebelik sonuçlarının olumsuz etkilenmediği söylenebilir.

Pam Tıp Derg 2016;9(3):204-210

Anahtar sözcükler: Lökosperrini, in vitro fertilizasyon, intrasitoplasmik sperm enjeksiyonu.

Abstract

Purpose: To investigate the effect of isolated leukocytospermia detected incidentally at the day of oocyte retrieval on in vitro fertilization / intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) treatment outcomes.

Materials and methods: This retrospective study included patients who underwent IVF/ICSI treatment at the Akdeniz University Reproductive Centre between January 2015 and March 2016. The electronic database was screened to identify the patients with isolated leukospermia detected at the day of oocyte retrieval. Seventy patients whose semen samples had leukospermia ($\geq 1 \times 10^6$ /mL) were retrospectively matched for women's age, metaphase 2 (M2) oocytes and previous unsuccessful attempts at IVF with 70 patients without leukospermia ($< 1 \times 10^6$ /mL). Fertilization rates, embryo qualities and pregnancy outcomes were compared between groups.

Results: The number of M2 oocytes and 2-pronuclei were similar between groups ($p > 0.05$). However, fertilization rate was found to be significantly lower in leukospermia group (%61.4 vs. %69.7, $p = 0.012$). The number of high quality embryos as well as developmental rate of high quality embryos from fertilized oocytes and high quality blastocysts from high quality cleavage stage embryos were comparable between groups ($p > 0.05$). Leukospermia group had increased number of patients with total fertilization failure (%14.3 vs. %2.9, $p = 0.016$) and cycle cancelation (%34.3 vs. %17.1, $p = 0.020$) rates. Although positive beta-human chorionic gonadotropin

Şafak Olgan

Yazışma Adresi: Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Antalya
e-mail: safakolgan@gmail.com

Gönderilme tarihi: 08.04.2016

Kabul tarihi: 21.04.2016

(β -hCG) rate per cycle was higher in the control group ($p=0.033$), positive β -hCG and clinical pregnancy rates per embryo transfer were found to be comparable between the groups ($p>0.05$).

Conclusion: Leukospermia might affect the fertilization and therefore increase total fertilization failures and cycle cancelations. However, if fertilization occurs successfully, this situation might not have adverse effects on embryo development and pregnancy outcomes.

Pam Med J 2016;9(3):204-210

Key words: Leukospermia, in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection.

Giriş

İnfertilite etiolojisinde önemli bir neden olan erkek infertilitesinin tanısında kullanılan en yaygın yöntem semen analizidir. Sperm parametrelerinin yanı sıra genitoüriner enfeksiyonların birincil göstergesi olan semende lökosit varlığı da infertil erkeğin değerlendirilmesi açısından gereklidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre, lökosit sayısı $\geq 1 \times 10^6$ mL olması lökospermiyi göstermektedir [1]. İnfertil erkeklerin yaklaşık %30'unda, inflamatuvar semptomlar ya da seminal bakteriyel enfeksiyon bulunmadan, lökospermiye rastlanılabilir [2]. Buna karşın lökosperminin erkek infertilitesine olan etkileri açık değildir [3,4]. Lökospertiye bağlı oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROS) semen kalitesi üzerine olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir [5,6]. Lökospertinin sperm DNA bütünlüğü [5-7] ve DNA kırıklarına neden olabileceği gösterilmiştir [8,9]. Bu nedenle, lökospermi saptanması durumunda gerekli androlojik ve mikrobiyolojik incelemeler yapılmalıdır [10].

Üremeye yardımcı tedavi yöntemlerinde lökosperminin etkilerinin araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır [11-16]. Bazı araştırmacılar tarafından lökosperminin in vitro fertilizasyon (İVF) / intrasitoplasmik sperm enjeksiyonu (İCSİ) sonuçlarını olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Talbert ve ark.'nın [11] yaptığı çalışmada lökospermi ileri hareketli sperm ve fertilizasyon oranlarında azalma ile ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, lökosit varlığının ROS üretimini artırarak sperm hareketliliğini kısıtladığı ve fertilizasyon kapasitesini azalttığı gösterilmiştir [12]. Lökosit kontaminasyonunun derecesine bağlı olarak da sperm fertilizasyon potansiyeli değişebilir [13]. Benzer şekilde, Yılmaz ve ark. [14] yaptıkları çalışmada da ileri hareketlilik ve sperm konsantrasyonunun lökospermi durumunda azaldığını saptamışlardır. Bu çalışmaların

aksine lökosperminin fertilizasyon ve gebelik sonuçlarına olumsuz etkilerinin bulunmadığı belirten çalışmalar da bulunmaktadır [15-18]. Bazı hastalarda lökospermi saptanmasına karşılık sperm parametrelerinde bozulma gözlenmeyebilir. Bu alt grubu oluşturan hastaların özel olarak incelenmesi lökosperminin, diğer seminal parametrelerden bağımsız ve izole olarak tedavi sonuçlarına etkisini daha iyi değerlendirmemizi sağlayabilir.

Çalışmamızda sperm parametreleri normal olmasına karşılık lökospermi saptanan olguları, kadın yaşı, matür oosit ve önceki tedavi sayıları eşleştirilmiş lökospermi saptanmayan olgularla karşılaştırarak; fertilizasyon ve gebelik sonuçlarını değerlendirmeye çalıştık. Bilgimiz dâhilinde, yaptığımız literatür taramasına göre, bu alt grup hastaların değerlendirildiği bir çalışmanın henüz yapılmadığını gözlemledik.

Gereç ve Yöntem

Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezine Ocak 2015 ve Mart 2016 tarihleri arasında başvuran ve İVF/ İCSİ tedavisi uygulanan hastalar retrospektif olarak değerlendirildi. DSÖ (2010) kriterlerine göre total sperm sayısı (≥ 40 milyon), konsantrasyon (≥ 15 milyon), total motilite ($\geq 40\%$), progresif motilite ($\geq 32\%$) ve morfoloji ($\geq 4\%$) olan hastalar çalışmaya dahil edildi [1]. Buna karşın, kadın yaşının 40'ın üzerinde olduğu ve oosit toplama işlemi sonrası metafaz 2 (M2) oosit elde edilemeyen hastalar çalışmadan dışlandı. Merkezimizde ön semen analizinde lökospermi belirlenen tüm hastalar üremeye yardımcı tedavi öncesinde androloji kliniğine yönlendirilerek uygun tedavileri almaları sağlanmaktadır. Çalışmamızda hasta kayıtlarını içeren elektronik veri tabanı incelenerek ön sperm analizinde lökospermi ($\geq 1 \times 10^6$ /mL) saptanmadığı halde işlem günü yapılan incelemede lökospermi gösteren hastalar ($n=70$) belirlendi. Rutin uygulamamız dâhilinde, kontrollü ovaryan

stimülasyonun son aşamasına ulaşmış olan bu çiftlere lökospermiye bağlı olarak literatüre göre yaşamları muhtemel riskler anlatılarak tedaviye devam etmek istediklerine dair yazılı onamları alınmıştır. Ardından, bu olgular multidisipliner yaklaşımla androloji kliniğine de yönlendirilmiştir.

Oosit toplama günü rastlantısal olarak lökospermi (lökosit sayısı $\geq 1 \times 10^6/\text{mL}$) saptanan bu hastaların belirlenmesinin ardından, seçilen her hasta için indeks olguya en yakın dönemde oosit toplama işlemi gerçekleştirilmiş; kadın yaşı, M2 oosit ve önceki tedavi sayıları eşleştirilmiş ancak lökospermi saptanmayan (lökosit sayısı $< 1 \times 10^6/\text{mL}$) hastalar seçilerek kontrol grubu oluşturuldu. Sonuç olarak, semen örneğinde lökospermi saptanan ($n=70$) ve saptanmayan ($n=70$) toplam 140 hasta analiz edilmek üzere çalışmaya dâhil edildi.

Hipofiz baskılanması siklusun 5. gününde gonadotropin-serbestleştirici hormon (GnRH) antagonistleri kullanılarak ya da önceki siklusun orta luteal döneminde GnRH agonistleri kullanılarak sağlandı. Hasta özelliklerine bağlı olarak kontrollü over stimülasyonu için insan menopozal gonadotropin ve/veya rekombinant folikül uyarıcı hormon kullanıldı. Her iki grupta da ≥ 2 folikül 17mm saptandığında 250 µg insan koryonik gonadotropin (hCG) uygulanarak 36 saat sonrasında oosit toplama işlemi gerçekleştirildi.

2-7 günlük ilişki yasağı sonrası masturbasyonla elde edilen semen örneği steril kaplara alındı. Likefiye taze semen örnekleri DSÖ klavuzunda belirtilen standart semen kalite parametrelerine göre analiz edildi. Standart peroksidaz testi kullanılarak semende lökosit sayımı yapıldı [1]. Üremeye yardımcı tedavi için hareketli ve lökositten arındırılmış spermilerin izolasyonu çift basamaklı yüzdürme (swim up) yöntemi ile sağlandı. Önceden dengelenmiş sperm yıkama solüsyonu (SpermRinse, Vitrolife, İsveç) ile 1:1 oranında dilüe edilen semen örneği 200 x g ile santrifüj edildi, süpernatanın uzaklaştırılmasını takiben 1 ml sperm yıkama solüsyonu ile resüspanse edilen pellet tekrar 200 x g ile santrifüj edildi. Nihai pellet 0,5 ml medyum ile 45 dakika %6 CO₂ inkübatörde yüzdürülerek süre sonunda izole edilen süpernatanın son değerlendirme neticesinde döllenme işlemlerine yönlendirildi.

3. günde embriyo kalitesi ASEBİR klasifikasyonu kullanılarak yapıldı [19]. ≥ 6 blastomere sahip ve fragmantasyon $\leq 5\%$ olduğu, hafif şiddette ya da asimetri bulunmayan vaküolsüz embriyolar yüksek kaliteli klivaj embriyolar olarak değerlendirildi. Üçüncü gün embriyoları lazer ile yardımcı yuvalama sonrası transfer edildi. Blastokist kültürüne devam etmesine karar verilen olgularda embriyolar; ardışık grupta üçüncü gün önceden dengelenmiş blastokist medyumuna (G-2 Plus, Vitrolife, İsveç) aktarıldılar. Blastokist evresine ulaşmış embriyolar Gardner ve Schoolcraft [20] değerlendirme sistemi kullanılarak incelendi. Blastokistler embriyo büyüklüğü ve iç hücre kitlesi ile trofoektodermlerinin kalitelerine göre sınıflandırıldı [20]. Embriyo büyüklüklerine göre 3-6 aşamalarına ulaşan embriyolar ve iç hücre kitleleri ve trofoektoderm kaliteleri A ya da B olan embriyolar yüksek kalite blastokistler olarak değerlendirildi. Her hasta için klivaj ve blastokist evresindeki yüksek kaliteli toplam embriyo sayıları hesaplandı. Oosit toplama işleminin 1 gün sonrasında günlük vajinal progesteron (Crinone;Merck Serono, İstanbul, Turkey) başlanarak luteal faz desteği sağlandı.

Oosit toplama işlemi sonrası 14. günde β -hCG ≥ 25 olması durumunda gebelik müspet olarak kabul edildi. 6-8 gestasyonel haftalarda gestasyonel kese içerisinde fetal kalp atımı saptanması halinde klinik gebelik olarak tanımlandı.

Veriler SPSS (Microsoft Statistical Package for Social Sciences, Windows, sürüm 22.0) programı ile analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama ve standart dağılım kullanılarak, kategorik değişkenler ise yüzde (%) olarak belirtildi. Normal dağılım gösterip göstermemesine göre Student's t-test veya Mann-Whitney U-test'i kullanılarak sürekli değişkenler gruplar arasında karşılaştırıldı. Kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar Fisher's exact testi kullanılarak analiz edildi. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Hastalara ait demografik özellikler Tablo 1'de verilmiştir. Lökospermi ve kontrol gruplarında kadın yaşı, öncesinde başarısız İVF denemesi, vücut kitle endeksi (VKİ), antral folikül sayıları, infertilite süresi, bazal follikül stimulan hormon

Tablo 1. Demografik ve fertilitite karakteristiklerinin gruplar arasında karşılaştırılması

	Lökospermi Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	P
Kadın yaşı	32.8±3.7	32.8±3.7	1.000
Öncesinde başarısız İVF denemesi	0.5±0.6	0.5±0.6	1.000
VKİ (kg/m ²)	23.8±3.8	25.9±2.5	0.138
Antral folikül sayısı	14.1±10.3	12.9±7.1	0.433
Tedavi öncesi gebelik	14 (20.0)	16 (22.9)	0.449
İnfertilite süresi (sene)	6.4±4.2	6.8±4.5	0.362
Bazal FSH (IU/L)	8.1±3.2	7.4±3.1	0.223
Bazal Estradiol (pg/mL)	39.5±17.7	37.3±20.5	0.524
Ultrasonografide polikistik over görünümü	22 (31.4)	18 (25.7)	0.454
Erkek yaşı	35.1±3.9	35.4±4.0	0.786
Lökosit konsantrasyonu (milyon/mL)	2.1±1.5	0.2±0.1	<0.001
Progresif motilite (%)	43.9±14.7	47.6±14.3	0.138
Total motilite (%)	49.4±13.8	52.4±13.1	0.190
Sperm konsantrasyonu (milyon/mL)	89.9±58.2	77.7±48.3	0.177
Normal morfoloji (%)	8.1±4.2	8.0±4.1	0.825

VKİ, vücut kitle indeksi; İVF, in vitro fertilizasyon; FSH, follikül stimulan hormon. Veriler ortalama ± standart sapma veya n (%) olarak gösterilmiştir

(FSH), bazal estradiol ortalamalarında fark saptanmadı ($p>0.05$). Benzer şekilde, hastalarda tedavi öncesi gebelik varlığı ve ultrasonografide polikistik over görünümü arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktaydı ($p>0.05$). Erkeğe ait özellikler incelendiğinde, yaş ve sperm konsantrasyonu gruplar arasında benzer bulundu ($p>0.05$). Yine progresif motilite, total motilite ve normal morfolojili sperm yüzdelerinde lökospermi ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p>0.05$).

Gruplar arasında metafaz 2 (M2) oosit ve 2-pronuclei (2PN) ortalamaları benzer bulundu ($p>0.05$) (Tablo 2). Ancak fertilizasyon oranı lökospermi grubunda daha düşük saptandı (%61.4 ve %69.7, $p=0.012$). Gruplar arasında İCSİ yapılan oosit ve/veya spermlerin kalitelerinde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Klivaj evresi (2-3. Gün) yüksek kalite embriyo sayıları ve fertilize oositten yüksek kalitede klivaj embriyo gelişim

oranı benzer idi ($p>0.05$). Hasta başına yüksek kalitede blastokist sayısı ve yüksek kaliteli klivaj evresindeki embriyolardan yine yüksek kaliteli blastokist gelişim oranı gruplar arasında istatistiksel olarak farklı saptanmadı ($p>0.05$). Buna karşılık, fertilizasyon başarısızlığının (%14.3 ve %2.9, $p=0.016$) ve siklus iptallerinin (%34.3 ve %17.1, $p=0.020$) lökospermi grubunda daha sık olduğu bulundu. Dolayısıyla, embriyo transferiyle sonuçlanan hasta sayısının kontrol grubunda istatistiksel olarak daha fazla olduğu görüldü ($p=0.020$). Hasta başına transfer edilen, kriyopreservasyon yapılan ortalama embriyo sayıları ve embriyo transfer günü gruplar arasında farklılık göstermemekteydi ($p>0.05$). Gebelik sonuçları değerlendirildiğinde, siklus başına pozitif β -hCG ($p=0.033$) kontrol grubunda daha yüksek bulundu (Tablo 3). Buna karşın, embriyo transferi başına pozitif β -hCG, klinik gebelik ve biyokimyasal/anembriyonik gebelik oranlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 2. İVF/İCSİ siklus sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması

	Lökospermi Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	P
Stimulasyon süresi (gün)	10.1±2.1	10.4±2.2	0.387
Gonadotropin dozu (IU)	1790.4±590.4	1750.7±490.8	0.696
M2 oosit (M2), hasta başına	6.1±4.2	6.1±4.2	1.000
2-pronuclei oosit (2PN), hasta başına	3.8±3.2	4.3±3.2	0.341
İCSİ'de kötü Sperm ve/veya oosit kalitesi	10 (14.3)	6 (8.6)	0.288
Fertilizasyon oranı (2PN/M2) (%)	264/430 (61.4)	300/430 (69.7)	0.012
Yüksek kalitede klivaj embriyo sayısı,hasta başına	1.9±2.4	2.1±2.3	0.694
Yüksek kalitede klivaj embriyo /2PN (%)	134/264 (50.8)	145/300 (48.3)	0.613
Yüksek kalitede blastokist sayısı, hasta başına	1.1±1.7	1.5±1.9	0.348
Yüksek kalite blastokist /klivaj embriyo (%)	56/134 (41.8)	54/145 (37.2)	0.464
Siklus iptali	24 (34.3)	12 (17.1)	0.020
Fertilizasyon başarısızlığı	10 (14.3)	2 (2.9)	0.016
Tranfer için uygun embriyo bulunmaması	6 (8.6)	2 (2.9)	0.145
Total embriyo kriyopreservasyonu	8 (11.4)	8 (11.4)	1.000
Embriyo transferi yapılan hasta sayısı	46 (65.7)	58 (82.9)	0.020
Transfer yapılan embriyo sayısı, hasta başına	1.0±0.8	1.1±0.7	0.349
Embriyo transfer günü			
Klivaj evresi (2-3. gün)	20 (43.5)	34 (58.6)	0.125
Blastokist evresi (4-5-6. gün)	26 (56.5)	24 (41.4)	
Kriyopreservasyon yapılan embriyo, hasta başına	0.5±1.2	0.6±1.3	0.891

Veriler ortalama ± standart sapma veya n (%) olarak gösterilmiştir. İVF, in vitro fertilizasyon; İCSİ, intrasitoplasmik sperm enjeksiyonu; M2, metafaz 2; 2PN, 2-pronuclei. Koyu belirtilmiş p değerleri istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (p<0.05).

Tablo 3. Gebelik sonuçlarının gruplar arasında karşılaştırılması

	Lökospermi Grubu (n=70)	Kontrol Grubu (n=70)	P
Siklus başına pozitif β-hCG	18 (25.7)	30 (42.9)	0.033
Embriyo transferi başına pozitif β-hCG	18 (39.1)	30 (51.7)	0.201
Siklus başına klinik gebelik	15 (21.4)	24 (34.3)	0.131
Embriyo transferi başına klinik gebelik	15 (32.6)	24 (41.4)	0.359
Pozitif β-hCG başına biyokimyasal / anembriyonik gebelik	3 (16.7)	6 (20.0)	0.958

Veriler ortalama ± standart sapma veya n (%) olarak gösterilmiştir. β-hCG, beta insan koryonik gonadotropin. Koyu belirtilmiş p değerleri istatistiksel anlamlılığı göstermektedir (p<0.05).

Tartışma

Çalışmamızda lökospermi grubunda fertilizasyon oranlarının anlamlı olarak azaldığını saptadık. Lökospermiye bağlı oluşan oksidatif stresin sperm DNA hasarına yol açtığı ve sonrasında DNA kırıklarının fertilizasyon oranlarını etkilediği gösterilmiştir [21,22]. Benzer şekilde Erenpreiss ve ark. [23] yaptıkları çalışmada lökospermi saptanan hastalarda DNA hasarı bulunan sperm oranının iki kattan daha fazla artış gösterdiği bulunmuştur. İntrauterin inseminasyon ya da konvansiyonel İVF

uygulamalarında oluşan DNA hasarı nispeten önemli olmayabilir. Bunun nedeni, sperm plazma membranındaki peroksidatif hasar sonucu DNA hasarlı sperm ile fertilizasyonun zaten gerçekleşmemesi olabilir. Buna karşın, İCSİ yöntemi kullanıldığında mevcut doğal bariyer ortadan kaldırıldığından, DNA hasarlı spermatozoa direk olarak oosit içerisine enjekte edilmektedir [24]. Bu spermatozoalar yeterli fertilizasyon kapasitesine sahip olmadıklarından fertilizasyon oranları azalıyor olabilir. Bu veriler doğrultusunda, lökosit ile kontaminasyon,

spermatozoa hücrelerinin in vitro ortamda fertilizasyon potansiyellerini etkileyen önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Fertilizasyon oranlarındaki azalmanın diğer bir sonucu da, özellikle sınırlı sayıda oosit elde edilen alt grupta ortaya çıkabilecek, total fertilizasyon başarısızlığıdır. Bu hususta, çalışmamızda da lökospermi bulunan grupta total fertilizasyon başarısızlığı nedeniyle tedavi iptallerinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde arttığını gözlemledik. Total fertilizasyon başarısızlığı saptanan hastalar detaylı incelendiğinde matür oosit sayı ortalamalarının, saptanmayan gruba göre istatistiksel olarak daha düşük olduğunu saptadık (6.4 ± 4.3 ve 3.8 ± 2.8 , $p=0.012$). Bu nedenle, özellikle zayıf over rezervi nedeniyle optimal oosit sayıları elde edilemeyen olgularda, doğrudan siklus iptallerine neden olacağından, lökosperminin klinik olarak daha önemli olabileceğini düşünmekteyiz. Buna karşın, yüksek kalitedeki klivaj ve blastokist evresindeki embriyo sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Benzer şekilde, lökospermiye bağlı DNA kırıklarının artması ile klivaj evresindeki embriyo kalitelerinin değişmediği bildirilmektedir [18,25].

Yılmaz ve ark. oligo/asteno/teratozoospermi nedeniyle İCSİ uygulanacak hastaların tedavi sonuçlarını semende lökospermi bulunup ($n=34$) bulunmamasına ($n=36$) göre karşılaştırdılar. Bu çalışmada, fertilizasyon ve embriyo gelişim oranları lökospermi grubunda daha düşük saptanmasına karşın gebelik sonuçlarında fark bulunmamıştır [14]. Benzer şekilde, Lackner ve ark. [15] tarafından yapılan çalışmada lökospermi saptanan 20 hastanın gebelik oranları, lökospermi saptanmayan grup ile benzer bulunmuştur. Semende lökospermi saptanan 25 hastanın dâhil edildiği diğer bir çalışmada, gebelik ve canlı doğum oranlarının farklılık göstermediği bildirilmektedir [17]. Bu çalışmaların sonuçlarının aksine, oosit toplama işlemi başına pozitif gebelik oranının lökospermi saptanan grupta daha düşük olduğunu gözlemledik. Bu durum fertilizasyon başarısızlığı ve siklus iptallerine bağlı embriyo transferi yapılamamasına bağlanabilir. Buna karşın, embriyo transferi başına pozitif gebelik ve klinik gebelik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık. Sonuç olarak, üremeye yardımcı tedavi uygulamalarında lökosperminin gebelik sonuçlarına etkisi halen açık değildir. Literatürde yer alan küçük ölçekli

çalışmalar, kendi kısıtlılıklar bölümlerinde de belirtildiği üzere, lökospermi ve gebelik sonuçlarının değerlendirilmesi için yeterli istatistiksel güce sahip olmayabilir [14,15,17]. Ayrıca, bahsi geçen çalışmaların hasta profilleri incelendiğinde kadın yaşı ve elde edilen matür oosit sayılarında istatistiksel olmasa dahi farklılıklar göze çarpmaktadır. Fertilizasyon sonuçları ve tedavi başarısının optimal değerlendirilebilmesi için sperm haricindeki oosit kaynaklı faktörlerin de dikkate alınması bu hususta önem taşımaktadır. Ancak bu sayede sperm kaynaklı izole bir problemin İVF-İCSİ sonuçlarına etkilerini değerlendirebilmek mümkün olabilir.

Sonuç olarak, lökospermi fertilizasyonu etkileyebileceğinden total fertilizasyon başarısızlığına ve siklus iptallerine neden olabilir. Ancak, fertilizasyonun sağlıklı şekilde gerçekleşmesi halinde embriyo kalitesinin ve gebelik sonuçlarının olumsuz etkilenmediği söylenebilir. Lökospermi ve etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için canlı doğum oranları ve perinatal sonuçları değerlendiren büyük ölçekli prospektif çalışmaların yapılmasına halen ihtiyaç vardır.

Çıkar ilişkisi: Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığı beyan eder.

Kaynaklar

1. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: WHO; 2010.
2. Gambera L, Serafini F, Morgante G, Focarelli R, De Leo V, Piomboni P. Sperm quality and pregnancy rate after COX-2 inhibitor therapy of infertile males with a bacterial leukocytospermia. Hum Reprod 2007;22:1047-1051.
3. Fedder J. Nonsperm cells in human semen: with special reference to seminal leukocytes and their possible influence on fertility. Fertil Steril 1996;36:41-65.
4. Arata de Bellabarba G, Tortolero I, Villarroel V, Molina CZ, Bellabarba C, Velazquez E. Nonsperm cells in human semen and their relationship with semen parameters. Fertil Steril 2000;45:131-136.
5. Saleh RA, Agarwal A, Kandirali E, et al. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. Fertil Steril 2002;78:1215-1224.
6. Lemkecher T, Dartigues S, Vaysse J, et al. Leucocytospermia, oxidative stress and male fertility: facts and hypotheses. Gynecol Obstet Fertil 2005;33:2-10.

7. Moskovtsev SI, Willis J, White J, Mullen JB. Leukocytospermia. relationship to sperm deoxyribonucleic acid integrity in patients evaluated for male factor infertility. *Fertil Steril* 2007;88:737-740.
8. Fariello RM, Del Giudice PT, Spaine DM, Fraietta R, Bertolla RP, Cedenho AP. Effect of leukocytospermia and processing by discontinuous density gradient on sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:151-157.
9. Domes T, Lo KC, Grober ED, Mullen JB, Mazzulli T, Jarvi K. The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes on semen parameters. *Fertil Steril* 2012;97:1050-1055.
10. Alshahrani S, McGill J, Agarwal A. Prostatitis and male infertility. *J Reprod Immunol.* 2013;100:30-66.
11. Talbert LM, Hammond MG, Halme J, O'Rand M, Fryer JG, Ekstrom RD. Semen parameters and fertilization of human oocytes in vitro: a multivariable analysis. *Fertil Steril* 1987;48:270-277.
12. Krausz C, Mills C, Rogers S, Tan SL, Aitken RJ. Stimulation of oxidant generation by human sperm suspensions using phorbol esters and formyl peptides: relationships with motility and fertilization in vitro. *Fertil Steril* 1994;62:599-605.
13. Sukcharoen N, Keith J, Irvine DS, Aitken RJ. Predicting the fertilizing potential of human sperm suspensions in vitro: importance of sperm morphology and leukocyte contamination. *Fertil Steril* 1995;63:1293-1300.
14. Yilmaz S, Koyuturk M, Kilic G, Alpak O, Aytoz A. Effects of leucocytospermia on semen parameters and outcomes of intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl* 2005;28:337-342.
15. Lackner JE, Mark I, Sator K, Huber J, Sator M. Effect of leukocytospermia on fertilization and pregnancy rates of artificial reproductive technologies. *Fertil Steril* 2008;90:869-871.
16. Barraud-Lange V, Pont JC, Ziyat A, et al. Seminal leukocytes are Good Samaritans for spermatozoa. *Fertil Steril* 2011;96:1315-1319.
17. Cavagna M, Oliveira JB, Petersen CG, et al. The influence of leukocytospermia on the outcomes of assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol* 2012;10:44.
18. Ricci G, Granzotto M, Luppi S, et al. Effect of seminal leukocytes on in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcomes. *Fertil Steril* 2015;104:87-93.
19. ASEBIR. (2008). Criterios de valoración morfológicos de oocitos, embriones tempranos y blastocistos humanos. II Cuaderno de Embriología Clínica. Available at: <http://www.asebir.com/.../cuadernos.../ii-cuadernos-de-embriología-clínica>. Accessed, 2016.
20. Gardner DK, Schoolcraft WB. In vitro culture of human blastocyst. In: Mortimer JR, ed. *Toward Reproductive Certainty: Infertility and Genetics Beyond 1999*. Carnforth: Parthenon Press, 1999;378-388.
21. Alvarez JG, Sharma RK, Ollero M, et al. Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril* 2002;78:319-329.
22. Lopes S, Sun JG, Jurisicova A, Meriano J, Casper RF. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998;69:528-532.
23. Erenpreiss J, Hlevicka S, Zalkalns J, Erenpreisa J. Effect of leukocytospermia on sperm DNA integrity: a negative effect in abnormal semen samples. *J Androl* 2002;23:717-723.
24. Twigg J, Irvine DS, Houston P, Fulton N, Michael L, Aitken RJ. Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm preparation: protective significance of seminal plasma. *Mol Hum Reprod* 1998;4:439-445.
25. Tesarik J, Greco E, Mendoza C. Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. *Hum Reprod* 2004;19:611-615.