

KLİNEFELTER SENDROMLU HASTALARDA MİKRODİSEKSİYON TESE (MİKRO TESE) VE PREİMLANTASYON GENETİK TANI (PGT) SONUÇLARIMIZ

THE OUTCOMES OF MICRODISSECTION TESE AND PREIMPLANTATION GENETIC DIAGNOSIS FOR PATIENTS WITH KLINEFELTER'S SYNDROME

M. Emre BAKIRCIOĞLU, Hakan BERKİL, Anıl BİRİCİK, Semra SERTYEL, Necati FINDIKLI, Semra KAHRAMAN

İstanbul Memorial Hastanesi IVF-Genetik ve Androloji Bölümü, İSTANBUL

ABSTRACT

Introduction: Testicular sperm extraction (TESE) for intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was first introduced for treatment of obstructive azoospermia and then testicular sperm were retrieved successfully for ICSI in patients with non-obstructive azoospermia (NOA). This approach opened a new era in the treatment of patients with NOA.

The aim of this study is to investigate the efficiency of testicular sperm retrieval techniques, ART outcome of couples and Preimplantation Genetic Diagnosis (PGD) of the couples in which male partner has Klinefelter's Syndrome.

Materials and Methods: A retrospective analysis was realized in Istanbul Memorial Hospital Assisted Reproductive Technology, Reproductive Genetics and Andrology Units between June 2002 and January 2003. Thirteen couples in which male partners are diagnosed as mosaic/non-mosaic Klinefelter's Syndrome with 47, XXY karyotype were included in this study. Patients underwent genital examination and testicular volume was determined by prader orchidometer. Hormonal analysis for serum levels of FSH and total testosterone were also assessed. Microdissection testicular sperm extraction (Micro TESE) procedure was applied in order to investigate if any larger and more opaque seminiferous tubules in the testis to retrieve spermatozoa. In patients with sperm recovery, ICSI was performed. Embryos were evaluated in terms of further development, and in 3 cases, PGD was performed for 16 embryos to diagnose chromosomal abnormality.

Results: Eleven cases were diagnosed Classic type of Klinefelter's Syndrome (47, XXY) and two cases were diagnosed as Mosaic type of Klinefelter's Syndrome (46, XY / 47, XXY). The median age of the male and female was 32.7±4.7, 28.3±3.3 years respectively. Testicular volume was measured 3±0.5 ml for both sides. Seven out of 13 of the patients (54%) were performed testicular biopsy previously.

In eight out of thirteen cases testicular spermatozoa were successfully recovered by Micro TESE (61.5%). After ICSI was performed, the fertilization of the oocytes was 58.7%. Three couples requested PGD and out of 16 embryos evaluated only one had 47, XXY chromosomal complement and eleven embryos were diagnosed as normal chromosomal complement. Selected embryos were transferred and two single pregnancies were achieved in eight cases (25%).

Conclusions: Micro TESE may have advantages than other procedures in terms of higher sperm recovery rate and less testicular tissue extraction in patients with Klinefelter's Syndrome. Previous diagnostic biopsy procedures in patients with Klinefelter's Syndrome may not be suitable because of small testicular volume and there is no predictive value in terms of sperm retrieval. Although PGD results did not showed increased incidence of chromosomal abnormality of the embryos, PGD may suggest eliminating abnormal embryos before they were transferred.

Key Words: Nonobstructive Azoospermia, Klinefelter's Syndrome, Microdissection TESE

ÖZET

Testisten sperm elde etme tekniklerinin geliştirilmesi ve elde edilen spermlerin intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) kullanımı ile oositlere aktarılması tıkanıklığa bağlı olmayan azoospermili (NOA) hastaların çocuk sahibi olmalarında önemli oranlarda başarı sağlamıştır. NOA olguların yaklaşık %10-15 gibi önemli bir kısmını oluşturan Klinefelter Sendromlu hastalar (47,XXY), sperm elde etme açısından düşük şans tanınan hasta gurubunu oluşturmaktadır.

Klinefelter Sendromu tespit edilen vakalarda Mikrodiseksiyon TESE (Mikro TESE) yöntemi kullanılarak sperm elde edilmesi ve mikroenjeksiyon yöntemi (ICSI) sonrası oluşan embriyolardaki implantasyon öncesi genetik tanı (PGT) sonuçlarımızın değerlendirilmesidir.

Dergiye Geliş Tarihi: 02.05.2003

Yayına Kabul Tarihi: 03.09.2003 (Düzeltilmiş hali ile)

İstanbul Memorial Hastanesi IVF-Androloji Polikliniği'nde Haziran 2002-Ocak 2003 tarihleri arasında başvuran azoospermik nedeniyle başvuran erkeklerden periferik karyotip analizi sonucunda Klinefelter Sendromu tespit edilerek 13 olgu çalışmaya alındı. Olguların tümüne Mikro TESE operasyonu uygulandı. Operasyon öncesinde hastaların tümünün genital muayeneleri yapıldı ve testis volümleri Prader orkidometre ile belirlendi. Serum FSH, LH ve Total testosteron düzeyleri ve semen analizleri yapıldı.

Mikro TESE ile sperm elde edilen olgularda ICSI sonrası oluşan embriyolarda PGT ile kromozomal anomali tespit edilenler ayrılarak transferleri yapıldı.

Periferik karyotip analizinde 11 olguda klasik tip Klinefelter (47,XXY) ve 2 olguda mozaik tip Klinefelter Sendromu (46,XY/47,XXY) tespit edildi. Erkek yaşı $32,7 \pm 4,7$ ve kadın yaşı $28,3 \pm 3,3$ yıl olarak tespit edildi. Testis volümleri $3 \pm 0,5$ ml olarak belirlendi. On üç olgunun 7 sinde (%54) diyagnostik amaçla önceden testis biopsisi uygulanmıştı. Olguların 8 inde Mikro TESE yöntemi ile başarılı sperm elde edildi (%61,5). Mikro TESE sonucunda elde edilen spermeler mikroyenjeksiyon yöntemi ile oositlere enjekte edildi. Bu spermeler kullanılarak yapılan ICSI işlemi sonrasında oositlerin %58,7 fertilize oldu. Embriyo gelişimleri takip edildikten sonra PGT önerilen olgularda kromozomal anomalili olanlar FISH yöntemi ile araştırılarak normal kromozom yapıları tespit edilen embriyoların transferi gerçekleştirildi. Toplam 16 embriyonun PGT incelemesi sonrasında 5 inde (%31,2) kromozomal anomali saptandı. Kromozomal anomali tespit edilen embriyoların yalnız bir tanesinde 47,XXY tespit edildi.

Embriyo transferleri sonucu iki olguda tekiz gebelik oluştu (%25) ve halen gebelikleri devam etmektedir.

Klinefelter Sendromu teşhis edilen olgularda, Mikro TESE ile sperm elde etme tekniği testisten daha az doku çıkarıldığından özellikle testis volümü çok düşük olan bu olgularda tercih edilebilir. Tanı koymak amacıyla yapılan tekli biyopsi uygulamaları testiküler volümü düşük bu olgularda sperm bulma açısından prognostik değeri olmadığı tespit edildi. Sperm elde edilen olgularda yapılan PGT incelemelerinde yüksek oranda anormal kromozom yapısı tespit edilmemesine karşın transfer öncesi normal kromozom yapısına sahip embriyoların değerlendirilmesi açısından bu test çiftlere önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Nonobstrüktif Azoospermia, Klinefelter Sendromu, Mikrodiseksiyon TESE

GİRİŞ

Klinefelter sendromu 1: 500 insidans ile en sık görülen kromozomal anomalilerdendir. Azoospermik infertil erkeklerde ise Klinefelter Sendromu görülme sıklığı %14 olarak tespit edilmiştir. Bu olguların yaklaşık %90'nında klasik tip olarak adlandırılan 47,XXY ve %10 oranında daha mozaik tip 46,XY/47,XXY görülmektedir¹. Klasik bilgilere göre fenotipik özellikleri uzun ekstremiteler ile birlikte uzun boy, jinekomasti, obesite, hafif düzeyde zeka geriliği, genital organlarda özellikle testislerde gelişme geriliği yanı sıra infertilite olarak sıralanabilir. Ancak son yıllarda yayınlanan raporlarda normal erkek fenotipinde ve normal mental yapıda olan Klinefelter Sendromlu erkeklerinde bulunabileceği bildirilmiştir².

Mikroyenjeksiyon yöntemi ile obstrüksiyona bağlı olan veya olmayan azoospermik erkek infertilitesine bağlı olgularda başarı ile testis spermeleri kullanılarak fertilizasyon, gebelik ve canlı doğum sağlanmıştır³⁻⁵. Bu yöntem sayesinde nonobstrüktif azoospermik erkeklerde testisten cerrahi yöntemlerle sperm elde etme teknikleri geliştirilerek çocuk sahibi olma oranları artırılmaya çalışılmıştır. İnce iğne ile sperm aspirasyonu, perkütan biyopsi veya açık cerrahi yöntem ile çoklu biyopsi ile testis dokusu alınarak sperm

elde edilmesi bu amaç için kullanılan yöntemlerdir^{6,7}. Testiküler sperm elde edilmesi için operasyon mikroskopunu kullanılması ile Mikro-TESE tekniği ilk olarak Schlegel tarafından tanımlanmıştır⁸.

Klinefelter Sendromu olan erkeklerde testiküler sperm kullanılarak ICSI yöntemi ile oluşan embriyo ve bebeklerde genetik açıdan risk taşıdığı düşünülmüştür. Ancak literatürde yapılan bildirilerde 21 sağlıklı doğumdan sadece bir doğumda, klasik tipte Klinefelter Sendromlu babadan alınan testiküler sperm ile ICSI sonucu, 47,XXY tespit edilen bebek rapor edilmiştir⁹. Bu nedenle Klinefelter olgularında ICSI yöntemi güvenli bir uygulama olarak kabul edilmekle birlikte PGD analizi veya amniyosentez çiftlerin implantasyon öncesi ve sonrası anomalili çocuk sahibi olmalarını engellemek amacıyla önerilmektedir¹⁰. Bu çalışmada, 3 çift fertilizasyon sonrasında iyi kalitede gelişen embriyoları için genetik test (PGT) isteğinde bulunmuştur.

Çalışmada Klinefelter Sendromlu erkeklerde testisten Mikro TESE yöntemi ile sperm elde etme ve bu spermeler kullanılarak yapılan ICSI sonuçlarında oluşan embriyolarda yapılan PGT sonuçlarımız analiz edilerek tartışıldı.

GEREÇ ve YÖNTEM

Haziran 2002-Ocak 2003 tarihleri arasında sitogenetik inceleme sonucunda Klinefelter Sendromu tespit edilmiş olan 13 hasta değerlendirilmeye alındı. Bu hastaların 2'sinde mozaik Klinefelter (46, XY/47, XXY) ve 11'inde klasik tip Klinefelter (47, XXY) tespit edildi. Hastaların tümünün genital muayeneleri yapıldı ve testis ölçümleri prader orkidometre ile belirlendi. Serum FSH, LH ve Total testosteron düzeyleri ve semen analizleri yapıldı.

Kromozom Analizi

Karyotip analizi için olgulardan 5 ml'lik lityum heparinli tüplere 2 ml periferik kan alındı. 0.8 ml Fetal Bovine Serum Albumin (Sigma, ABD) içeren 5 ml HAM's F-10 medyumuna (Bi-ochrom, Almanya) 0.5 ml kan örneği eklendi ve daha sonra 0.04 ml L-Glutamin, 0.04 ml Penisilin-Streptomisin ve 0.1 ml *Phytohemagglutinin* ilave edildi. 37°C'de 72 saatlik inkübasyon başlatıldı ve 68. saate 50 µl etidyum bromür eklendi. Hücreleri erken metafaz aşamasında harvest edebilmek için 3 saat sonra 100 µl kolşemid (0.05 mg/ml) eklendi ve hücreler GTG bantlaması (*Gimmsa Trypsin G-banding*) için hazırlandı.

Mikro TESE tekniği

Genel anestezi altında vertikal skrotal rafeye yapılan insizyonla katlar geçilerek tunika albugineayı açarak testis dışarı alındı. Testise operasyon mikroskobu altında X9 büyütmede, damar yapısı gözetilerek, orta bölüme yakın bölgeden enine geniş bir kesi yapıldı. Mikroskopta x20-25 büyütmede testiküler parenkim incelenerek tubullerin araştırılması yapıldı. Geniş, normale yakın büyüklükteki seminifer tubuller mikro penset ile toplandı, kanamalar bipolar koter ile durduruldu (Resim 1). Ortalama ağırlığı 20 mg olan doku örnekleri operasyon sırasında odada bulunan ekip tarafından 1 ml medyum (EBSS) içerisinde penset ve 26G iğne yardımı ile parçalanarak homojenize edildi. Işık mikroskobunda x200 büyütmede incelendi. Tek tarafta yapılan inceleme sperm görülemezse diğer taraftaki testiste aynı uygulama yapıldı.

Ovulasyon indüksiyonu ve oosit eldesi

Gonadotropin agonistleri kullanılarak (*Buserelin Suprefact®*, Hoechst AG, Frankfurt, Germany) pitüatirik salgılanma baskı altına alındıktan sonra folikül stimulan hormon (FSH) (Gonal-

F®; Serono, Turkey; Puregon®; Organon, Turkey; Metrodin®; Serono, Turkey), human menapozal gonadotropin (HMG) (Humegon®; Organon, Turkey) ve human koryonik gonadotropinler (HCG; Profasi, Serono, Turkey or Pregnyl, Organon, Turkey) verilerek oosit stimulasyonu sağlandı¹¹.



Resim 1-A. Germ hücre aplazisi tespit edilen hastada mikroskopta x20 büyütmede dilate olmuş seminifer tubuller görülmektedir.



Resim 1-B. Aşırı Leydig hücrelerinin hiperplazisi ile çevrelenmiş küçük bir alanda dolgun seminifer tubullerin x20 büyütmede operasyon mikroskobu ile görüntüsü izlenmektedir.

ICSI ve Embriyo kültürü

10.000 IU hCG (Profasi, Ares Serono Laboratories Co, Welwyn Gordon City, UK) enjeksiyonundan 36 saat sonra oositler transvajinal ultrason kılavuzluğunda toplandı. Elde edilen oosit kümülüs kompleksleri Petri kaplarına konulan 7 ml Gamete-20 (*Vitrolife*; Gothenburg, Sweden) içerisinde biriktirildi.

Oosit kümülüs kompleksleri invert mikroskopta incelendikten sonra 100 µl IVF-20 (*Vitrolife*; Gothenburg, Sweden) solusyonu içerisinde 37

°C ve %5 CO₂ hava akımı sağlanan inkubatörlerde 2 saat bekletildi. Kümülsüs hücreleri ve korona radiata cells 40 IU/ml hyaluronidase (type VIII, specific activity 320 IU/mg, H 3757®; Sigma Chemical Co.) içeren Gamete-20 solüsyonunda ayrıştırıldı. Oositler IVF 20 solüsyonunda yıkanarak matürasyon derecelendirmesi ve polar cisimlerin varlığı invert mikroskopta değerlendirildi. Oositler IVF 20 solüsyonunda 37°C, %5 CO₂ hava akımında ICSI işlemine kadar inkubatörde bekletildi. ICSI işleminden hemen sonra enjekte olan oositler G1.2 media içerisine alındı ve 3. günün sabahına kadar inkubatörde kültüre bırakıldı. Üçüncü günün sabahında embriyolar G2.2 sıvısı içerisine alınarak transfer gününe kadar bekletildi.

Fertilizasyon ICSI den 16-18 saat sonra değerlendirildi. Normal fertilizasyon iki pronükleer içeren nükleer cisimcikler (PNBs) görülünce tanımlandı. İn vitro kültür içerisindeki embriyoların kalitesi ve klivajı 24, 48, 72 and 96 saat sonra değerlendirildi. Embriyolar blastomer sayısı, eşit oranda büyüklükleri ve nükleer fragmanların oranları açısından invert mikroskopta değerlendirildi.

Embriyo biyopsisi

Embriyo gelişiminin 3. gününde, 7 veya fazla blastomer içeren iyi morfolojik yapıdaki embriyolar (grade I or II) embriyo biyopsisi için seçildi. Zona 1.48µm diode lazer (Fertilase®, MTM Medical Technologies, Montreux SA, Switzerland) ile açıldı. Blastomer biyopsi pipeti için 25-30 µm aralığı sağlandı. Belirgin nükleusu olan blastomerler biyopsi işlemi ile alındı. Biyopsiden sonra embriyolar gelişim takibi için kültür ortamına konuldu.

Fluorescence in situ Hibridizasyon (FISH)

Biyopsiden sonra blastomerler, sitoplazmayı tamamen eritmek amacıyla HCl tween 20 ile muamele edildi ve metanol/asetik asit (3/1) solüsyonu ile fiksasyon gerçekleştirildi. FISH analizi için, 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarına yönelik hibridizasyon paneli (Preimplantasyon genetik tanı probu; Vysis Inc.) kullanıldı. Pepsin ile muameleden ve paraformaldehit postfiksasyonundan sonra 73°C'de 5 dakika kromozomların ve problemlerin simultane denatürasyonu yapıldı. Hibridizasyon cihazı (Hybrite, Vysis) kullanılarak, sentromerik problemler için 37°C'de 2 saat hibridizasyon

yaşlandı. 0.4xSSC, %0.3 NP40 içerisinde 73°C'de 2 dakika, 2xSSC içerisinde oda sıcaklığında 1 dakika bekletilerek post hibridizasyon yıkamaları yapıldı. Slaytlar kuruduktan ve antifade ekledikten sonra, uygun filtreli bir Olympus floresan mikroskobu (BX50) ve bilgisayar destekli görüntü kayıt sistemi (Isis in situ imaging system, Version 3.4.0; Metasystems GmbH, Almanya) kullanıldı. Munne ve Weier tarafından tarif edilen skorlama kriterleri takip edildi¹².

BULGULAR

Olgularda ortalama yaş 32,7±4,7 yıl ve testis volümleri her iki testiste de ortalama 3±0,5 ml olarak tespit edildi. Olguların fiziksel görünümlelerinde uzun ekstremiteler, uzun boy, obezite gibi önükoidal iskelet yapısı ve kılınmada azalma, jinekomasti gibi fenotipik Klinefelter bulguları mevcuttu. Ancak 3 olguda ise atrofik testisler dışında tamamen normal erkek fenotipi tespit edildi. Semen analizlerinde bazal değerlendirmede ve konsantrasyon sonrası değerlendirmede azospermia tespit edildi. Hormon profilinde serum düzeyleri FSH: 31,2±16,2 IU/L, LH: 19,9±3,5 IU/L ve total testosteron: 2,5±1,2 ng/dl olarak belirlendi. Olguların 7'sinde daha önce testis biyopsisi yapılmıştı (%54). Biyopsi sonucunda 6 olguda germ hücre aplazisi ve leydig hiperplazisi ve 1 olguda matürasyon arresti tespit edilmişti. Hiçbir olguda daha önce periferik karyotip inceleme yapılmamıştı.

On üç Klinefelter Sendromlu olgunun 2'sinde mozaik tipte Klinefelter Sendromu (%15), 11'inde klasik tipte Klinefelter Sendromu tespit edildi (%85). Bu olguların 8'inde Mikro TESE yöntemi ile başarılı sperm elde edildi (%61,5). Bu olgulardan yalnız biri mozaik tipte olup 7'si klasik tipte Klinefelter Sendromu tespit edilen olgulardı. Testisten alınan doku örneklerinin tartımında ortalama 20±4,2 mg büyüklüğünde biyopsi parçaları alındığı tespit edildi.

Oosit toplama işleminde alınan metafaz II oositler ile yapılan 8 ICSI siklusunda 37 embriyo gelişti, uygulamada fertilizasyon oranı %58,7 olarak tespit edildi. Embriyo gelişiminin üçüncü gününde toplam 27 embriyo birinci kalitede olduğu gözlemlendi ve sekiz olguda ortalama 2,4±1,6 embriyo transferi gerçekleştirildi. İki olguda da azalmış over rezervinden dolayı yalnız birer oo-

site ICSI uygulandı ve her iki olguda da oluşan birer embriyo transfer edildi. İki klasik tipte Klinefelter Sendromu olgusunda hormonal gebelik oluştu. Halen bu iki olguda klinik olarak tekiz gebelik devam etmektedir.

PGT incelemesi 8 olgunun 3'ünde, iyi gelişim gösteren toplam 16 embriyoda gelişimlerinin 3. gününde yapıldı. Preimplantasyon genetik tıbbında sıklıkla görülen kromozom anomalilerinden 13, 18, 21, X ve Y kromozomları incelendi (Tablo 1). Bir olguda kadının erkek kardeşinde Duchenne Musküler Distrofi olduğundan erkek embriyoları seçmek için yalnız X ve Y kromozomları incelendi ve yalnız XX taşıyan embriyolar transfer edildi.

Hasta No	Embriyo No	Sonuç	Transfer
1	1	Normal	yapıldı
	2	Normal	yapıldı
	3	Triploid (69,XXY)	
	4	Normal	yapıldı
	5	Normal	yapıldı
	6	Klinefelter (47,XXY)	
2	1	Haploid (23,X)	
	2	Trizomi 13	
	3	Normal	yapıldı
	4	Normal	yapıldı
	5	Monozomi 13	
3	1	XX	yapıldı
	2	XX	yapıldı
	3	XY	
	4	XY	
	5	XY	

Tablo 1. PGT sonuçları

TARTIŞMA

NOA olan olguların %50'ye yakın oranında testisin içerisinde fokal sperm yapımı olduğu bildirilmiş ve testiste lokal sperm yapımı olan dokuların çıkarılarak bunlardan sperm elde edilmesi ve ICSI yöntemi ile oositlere aktarımı sonucu NOA tespit edilen erkeklerin çocuk sahibi olmaları sağlanmıştır^{13,14}. İlk olarak TESA ve perkütan biyopsi gibi yöntemlerden sonra, yapılan araştırmalar, açık cerrahi yöntemlerde sperm elde etme başarısının daha yüksek olduğunu göstermiştir¹³. Ancak açık cerrahi yöntemde testisin çe-

şitli bölgelerinden, fazla sayı ve miktarlarda doku çıkarılması zaten testis volümleri normalin altında olan bu NOA'lı olgularda ileride yapılacak yeni işlemleri zorlaştırması ve testosteron üretiminin bozulması açısından risk oluşturmıştır. Schlegel 1999 yılında TESE de operasyon mikroskobunu kullanarak, Mikrodiseksiyon TESE (Mikro TESE) yöntemini bildirmiştir⁸. Bu yönteminde operasyon mikroskobunun sağladığı avantaj, testisten doku kaybının çok az olmasına karşın sperm elde etme oranının çoklu biyopsi yöntemine göre daha yüksek oluşu, testisin damar yapısının horizontal insizyonla açılması ile daha az zarar görmesi ve mikroskop altında dikkatli kanama kontrolünün sağlanarak postoperatif dönemde testisin içerisinde oluşabilecek fibrozisin minimal olmasıdır. Son yıllarda yapılan yayınlar da operasyon süresinin artmasına karşın Mikro TESE operasyonlarında sperm elde etme oranının çoklu biyopsi yöntemine oranla yüksek olduğu gösterilmiştir^{15,16}.

Sperm elde etme açısından riskli grup olarak değerlendirilen Klinefelter Sendromlu hastalarda Mikro TESE ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Bir çalışmada 6 Klasik tipte Klinefelter olgusunda çoklu biyopsi yöntemi ile sperm elde edilemezken, 11 olgunun 5'inde (%45,5) sperm bulunmuştur¹⁵. Yine başka bir çalışmada Klinefelter tespit edilen 20 olgunun, 27 TESE girişiminde 19 işlemde (%70,4) Mikro TESE yöntemi ile sperm elde edilmiştir²⁰. Çalışmamızda 13 Klinefelter olgusunda %61,5 sperm elde etme oranımız diğer çalışmalardaki sonuçlara paralellik oluşturmaktadır.

Çalışmadaki olguların %54'inde diyagnostik testis biyopsisi yapıldığı ve 6 olguda Leydig hiperplazisi ve germ hücre aplazisi sonucu tespit edilmişti. Klinefelter olgularında bu patolojik yapı daha önceki bir çalışmada rapor edilmişti¹⁷. Biz de çalışmamızda biyopsi sonuçları ile sperm elde etme başarısı arasında prognostik açıdan bir korelasyon tespit etmedik. Dolayısıyla Klinefelter olgularında çok küçük olan testislerin diyagnostik amaçla biyopsi işlemine alınması daha sonraki operasyonları da başarı şansını azaltabilir ve hastanın doku kaybı nedeniyle testislerin zarar görmesine, düşük düzeylerde olan testosteron üretiminin azalmasına yol açabilir. Ayrıca 13 Klinefelter olgunun tamamında FSH, LH değer-

lerinin yüksek oluşu ve testis volümlerinin ortalama 3 ml oluşuna karşın fenotipik olarak tamamen normal virilizasyon ve erkek fenotipi olan olgularda tespit edildi. Klasik olarak bildirilen uzun ekstremiteler, azalmış virilizasyon, kas yapısında azalma ve jinekomasti her Klinefelter olgusunda bulunmazken artmış serum FSH, LH oranları ile birlikte semen analizlerinde azospermi veya mozaik Klinefelter olgularında şiddetli sperm yapım bozukluğunu ile beraber ileri derecede azalmış testiküler volüm klinik olarak dikkat çekici olarak tespit edildi. Azoospermia nedeniyle infertilite polikliniklerine başvuran hastaların %10-15'inde Klinefelter Sendromu görülebileceğinden klinik olarak bu özellikleri taşıyan hastaların periferik karyotip analizleri önerilebilir.

Mozaik Klinefelter hastalarında ejakülat spermelerinde yapılan kromozom analizlerinde % 0,9 oranında spermelerde 24, XY kromozom yapısına rastanmıştır¹⁸. Diğer bir çalışmada ise mozaik Klinefelter Sendromlu erkeklerde spermelerde dizomi (24, XX, 24, YY, 24, X ve 24, Y, +1) ve diploidi (46, XX, 46, YY, 46, XY) oranlarının kontrol grubuna göre farklı olmadığı ancak hiperhaploid yapının (%2,09) kontrol gurubundan anlamlı olarak yüksek bulunduğu bildirilmiştir¹⁹. Ancak bizim serimizde testiküler sperm ile yapılan ICSI uygulaması sonucunda gelişen 16 embriyoda yapılan PGT incelemesinde sadece bir embriyoda Klinefelter Sendromuna rastlanılmıştır. Bu da anöploid embriyoların gelişme aşamasında durakladıklarını veya yavaş gelişim gösterdiklerini düşündürmektedir. Literatürde yayınlanan Klinefelter olgularından elde edilen spermeler ile yapılan ICSI sonrası canlı 21 doğumdan ancak bir olguda Klinefelter tespit edilmiştir⁹. Sonuç olarak PGT ile değerlendirilen embriyo sayısı henüz az olduğundan bu tam testi Klinefelter olgularında genetik açıdan normal embriyoların tespiti ve transferi için önerilebilir.

KAYNAKLAR

- 1- **Therman ESM:** Human Chromosomes: Structure, Behavior and Effects. New York: Springer-Verlag; 1993.
- 2- **Damani MN, Anglade RE, Oates RD:** Are all men with Klinefelter's syndrome created equally? Fertil Steril.76: S98-S99, 2001.
- 3- **Kahraman S, Tasdemir M, Tasdemir I, et al:** Pregnancies achieved with testicular and ejaculated spermatozoa in combination with intracytoplasmic sperm injection in men with totally or initially immotile spermatozoa in the ejaculate. Hum Reprod. 11: 1343-6, 1996.
- 4- **Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal-Bertin G, van de Casseye M:** Successful fertilization by testicular spermatozoa in an in-vitro fertilization programme. Hum Reprod. 8: 1339-40, 1993.
- 5- **Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P:** High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. Hum Reprod. 10: 148-52, 1995.
- 6- **Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Soffer Y, Komarovsky D, Ron-El R:** Testicular sperm retrieval by percutaneous fine needle sperm aspiration compared with testicular sperm extraction by open biopsy in men with non-obstructive azoospermia. Hum Reprod. 12: 1488-93, 1997.
- 7- **Turek PJ, Cha I, Ljung BM:** Systematic fine-needle aspiration of the testis: Correlation to biopsy and results of organ "mapping" for mature sperm in azoospermic men. Urology. 49: 743-8, 1997.
- 8- **Schlegel PN:** Testicular sperm extraction: Microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. Hum Reprod. 14: 131-5, 1999.
- 9- **Ron-El R, Strassburger D, Gelman-Kohan S, Friedler S, Raziel A, Appelman Z:** A 47, XXY fetus conceived after ICSI of spermatozoa from a patient with non-mosaic Klinefelter's syndrome: Case report. Hum Reprod. 15: 1804-6, 2000.
- 10- **Greco E, Rienzi L, Ubaldi F, Tesarik J:** Klinefelter's syndrome and assisted reproduction. Fertil Steril. 76: 1068-9, 2001.
- 11- **Kahraman S, Bahce M, Samli H, et al:** Healthy births and ongoing pregnancies obtained by preimplantation genetic diagnosis in patients with advanced maternal age and recurrent implantation failure. Hum Reprod. 15: 2003-7, 2000.
- 12- **Munne S, Dailey T, Finkelstein M, Weier HU:** Reduction in signal overlap results in increased FISH efficiency: Implications for preimplantation genetic diagnosis. J Assist Reprod Genet.13: 149-56, 1996.
- 13- **Rosenlund B, Kvist U, Ploen L, Rozell BL, Sjoblom P, Hillensjo T:** A comparison between open and percutaneous needle biopsies in men with azoospermia. Hum Reprod. 13: 1266-71, 1998.
- 14- **Kahraman S, Ozgur S, Alatas C, et al:** Fertility with testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermic men. Hum Reprod. 11: 756-60, 1996.

- 15- **Okada H, Dobashi M, Yamazaki T, et al:** Conventional versus microdissection testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia. J Urol. 168: 1063-7, 2002.
- 16- **Tsujimura A, Matsumiya K, Miyagawa Y, et al:** Conventional multiple or microdissection testicular sperm extraction: A comparative study. Hum Reprod. 17: 2924-9, 2002.
- 17- **Tournaye H, Staessen C, Liebaers I, et al:** Testicular sperm recovery in nine 47, XXY Klinefelter patients. Hum Reprod. 11: 1644-9, 1996.
- 18- **Lim AS, Fong Y, Yu SL:** Analysis of the sex chromosome constitution of sperm in men with a 47, XYY mosaic karyotype by fluorescence in situ hybridization. Fertil Steril. 72: 121-3, 1999.
- 19- **Chevret E, Rousseaux S, Monteil M, et al:** Increased incidence of hyperhaploid 24, XY spermatozoa detected by three-color FISH in a 46, XY/47, XXY male. Hum Genet. 97: 171-5, 1996.
- 20- **Schiff JD, Palermo GD, Takeuchi T, et al:** Success of TESE-ICSI in men with non-mosaic Klinefelter syndrome. Fertil Steril. 78 (suppl. 1): 248, 2002.