

SPERM PARAMETRELERİNİN ICSI BAŞARISINDAKİ ROLÜ THE ROLE OF SPERM PARAMETERS ON ICSI SUCCESS

Bariş ALTAY*, Erdal APAYDIN*, Özgür ERDOĞAN*, Ege TAVMERGEN GÖKER**,
Erol TAVMERGEN**, Bülent SEMERCİ*

* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İZMİR

** Ege Üniversitesi Aile Planlaması, Kısırlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, İZMİR

ABSTRACT

Introduction: In this study, we aimed to investigate the relation between the sperm parameters and fertilization and pregnancy rates in intracytoplasmic sperm injection (ICSI) method which is applied to infertile couples.

Materials and Methods: Four hundred thirty six couples who applied to Ege University Family Planning and Infertility Research and Treatment Center between January 2000 and January 2002 period were enrolled to the study. Infertile couples of males were evaluated by physical examination, spermiogram and hormone profile. Sperm morphologies were evaluated with Kruger criteria.

Results: One hundred twenty two of 493 infertile males (24.74%) had oligozoospermia, 59 of them had asthenozoospermia (11.96%), 67 of them (13.61%) had teratozoospermia and 188 of them oligoasthenozoospermia (38.13%). For the statistical analysis, 57 (11.56%) infertile patients with normal sperm parameters were considered as the control group. The fertilization rates were as follows: 70.9% in oligozoospermic group, 72.8% asthenozoospermic group, 67.4% in teratozoospermic group, 66.7% oligoasthenozoospermic group and 79% for the control group. (p=0.27) Pregnancy rates in oligozoospermic group was 41.3%, in asthenozoospermic group was 43.9%, in teratozoospermic group 35.9%, in oligoasthenozoospermic group was 46.4% and for the control group was 49.1% (p=0.632).

Conclusion: We did not see any difference between the disorders of sperm parameters oligozoospermia, asthenozoospermia, teratozoospermia, oligoasthenozoospermia. ICSI seems to be a successful method in the treatment of male infertility.

Key words: Male infertility, sperm parameters, ICSI

ÖZET

Bu çalışmamızda, infertil çiftlere uygulanan ICSI yönteminde sperm parametreleri ile fertilizasyon ve hamilelik oranları arasındaki ilişkiyi saptamayı amaçladık.

Ocak 2000-Ocak 2002 tarihleri arasında Ege Üniversitesi Aile Planlaması, Kısırlık Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne başvuran 493 çift değerlendirilmeye alındı. İnfertil erkek hastalar fizik muayene, semen analizi ve hormon profili ile değerlendirildi. Hastalara ICSI yöntemi uygulanarak fertilizasyon ve gebelik oranları karşılaştırıldı.

Yapılan değerlendirmede toplam 493 infertil erkeğin 122'sinde oligozoospermi (%24.74), 59'unda astenozoospermi (%11.96), 67'sinde teratozoospermi (%13.61) ve 188'inde oligoastenozoospermi saptandı (%38.13). Ayrıca normal sperm parametreleri olan 57 infertil hasta (%11.56) kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Fertilizasyon oranları; oligozoospermik grupta %70.9, astenozoospermik grupta %72.8, teratozoospermik grupta %67.4, oligoastenozoospermik grupta %66.7 ve kontrol grubunda ise %79 olarak saptandı (p=0.27). Gebelik oranları incelendiğinde oligozoospermik grupta %41.3, astenozoospermik grupta %43.9, teratozoospermik grupta %35.9, oligoastenozoospermik grupta %46.4 ve kontrol grubunda ise %49.1 oranları elde edildi (p=0.632).

Çalışmamızda farklı sperm parametrelerinde bozukluk (oligozoospermi, astenozoospermi, teratozoospermi, oligoastenozoospermi) olan hastalara uygulanan ICSI yönteminde, fertilizasyon ve gebelik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. ICSI erkeğe bağlı infertilite tedavisinde başarılı bir yöntem olarak görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, Sperm parametreleri, ICSI

GİRİŞ

İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ilk kez Palermo ve arkadaşları tarafından 1992 yılında uygulanmış, erkeğe bağlı infertilitesi olan ve daha önce tedavi edilemeyen birçok çiftte te-

davi sağlamıştır¹. Van Steirteghem ve arkadaşları erkeğe bağlı infertilite hastalarında geniş serilerde ICSI yöntemini kullanarak yüksek fertilizasyon ve implantasyon oranları elde etmişlerdir². İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu yöntemi, er-

keğe bağlı şiddetli infertilite vakaları için geliştirilmiştir. İnfertil erkeklerde azospermi yada oligoastenozoospermi gibi farklı sperm parametre bozuklukları bulunabilir. Şiddetli oligoastenozoospermili hastaların hemen hemen tümünün ICSI ile başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesinin ardından; obstrüktif ve non-obstrüktif azospermili hastalarda mikro cerrahi yöntemlerle epididimal sperm çıkarılması yada testiküler sperm ekstraksiyonu yöntemleri kullanılarak ICSI uygulanmıştır⁵⁻⁷. Bununla birlikte bu gruptaki gebelik sonuçları, diğer nedenlerle oluşmuş infertilite hastalarındaki ICSI sonuçlarına göre daha kötüdür^{3,4}. Çeşitli çalışmalarda elde edilen deneyimlerde sperm parametreleri ve antispermi antikoru gibi faktörlere bakılmaksızın, ejakülattaki spermatozoalar kullanılarak ICSI yöntemi uygulandığında çok iyi sonuçlar alındığı görülmüştür⁸⁻¹⁰.

Bu çalışmada, ICSI uygulanan infertil çiftlerde farklı sperm parametreleriyle elde edilen gebelik ve fertilizasyon oranlarını karşılaştırarak; sperm parametreleri ile fertilizasyon ve gebelik arasındaki ilişkiyi araştırdık ve sonuçlarını değerlendirdik.

GEREÇ ve YÖNTEM

EÜ Aile Planlaması ve Kısırlık Araştırma ve Uygulama Merkezi'ne Ocak 2000-Ocak 2002 tarihleri arasında başvuran 493 çift çalışmaya alındı. Her hastaya bir tane olmak üzere toplam 493 ICSI siklusu uygulandı. İnfertil erkekler detaylı anemnez, fizik muayene, spermiogram ve hormon profili ile değerlendirildi. Hastaların 436'sı sperm parametrelerine göre dört gruba ayrıldı (oligozoospermi, astenozoospermi, teratozoospermi, oligoastenozoospermi). Ayrıca istatistiksel değerlendirme için, normozoospermik 57 çift kontrol grubu olarak çalışmaya alındı.

Semen Analizi

Semen örnekleri 3-4 günlük cinsel perhiz sonrası alındı. Örnekler analiz öncesi 37°C'de en az 20 dakika likefaksiyona uğratıldı. Sperm konsantrasyon ve motilitesi Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen parametrelere göre, morfoloji ise Kruger kesin kriterlerine göre incelendi.

Over stimülasyonu ve oosit toplanması

Over stimülasyonu, uzun (n=164) ve kısa (n=299) protokollere göre GnRH (Triptorelin, Decapeptyl-Ferring) ve FSH (Metrodin, Sero-

no)+HMG (Humegon, Organon, Pergonal, Sero-no) kombinasyonları ile yapıldı. Uzun protokol sikluslarında, bir önceki siklusun midluteal fazında başlanan Triptorelin'e (s.c) yeterli hipofizer down regülasyon sağlanıncaya kadar ortalama 14 gün devam edildi. Folikül gelişimi FSH+HMG enjeksiyonları ile stimüle edildi. Kısa protokol sikluslarında, Triptorelin ve FSH+HMG, menstrual siklusun ikinci günü (eğer E₂70 pg/ml altında ve 15 mm üstü over kisti yoksa) başlandı. Gonadotropin hormon dozu, hasta yaşı, önceki stimülasyon öyküsü veya stimülasyon cevabına göre ayarlandı. Ovulasyon 10000 IU HCG (Pregnyl 5000 IU, Organon; Profasi 5000 IU, Sero-no) ile en az iki folikül çapının 18 mm üstüne çıktığı zaman sağlandı. Oositler HCG verilmesinden 36 saat sonra transvaginal ultrasonografi eşliğinde toplandı.

Oosit Manipülasyonu

Oositler aspire edilmelerinden sonra etraflarındaki kumulus hücrelerinden temizlenmeleri için iki saat hyaluronidazda bekletildikten sonra tam olarak korona hücrelerinden arınması için IVF 50 medyasına transfer edildi. Metafaz II (MII) oositler IVF 50 medyasında yıkandıktan sonra enjeksiyon zamanına kadar inkübe edildi.

ICSI Yöntemi

10 µl PVP mikro damlası ortaya konulduktan sonra, 8 adet IVF 50 mikro damlası yağ altı olarak uygulandı. Her bir damla içine oositler yerleştirildi. Yaklaşık 2 µl sperm süspansiyonu PVP damlasına eklendi ve mikroskop altında kontrol edildi. Mikroenjeksiyon uygulaması iki pozisyon verici manipülatörün eşliğinde ısıtma tablalı invert mikroskop ile yapıldı. Seçilen spermatozoon aspire edilmeden önce kuyruğuna dokunularak manipüle edildi. Enjeksiyon pipetine ilk kuyruğun girmesi sağlandı. Oosit tutucu pipet ile tutuldu ve spermatozoon içeren enjeksiyon pipeti saat 3 pozisyonunda zona pellisuda, oolemma ve sitoplazmayı derinlemesine geçerek uygulandı. Az bir miktar sitoplazma aspire edildi. Spermatozoon ve sitoplazma enjekte edildikten sonra enjeksiyon pipeti nazıkçe çıkartıldı. Enjeksiyon sonrası oosit yıkandı ve yağlı IVF 50 medyasında inkübe edildi.

Fertilizasyon sağlanması, embriyo klivajı ve gebelik saptanması

Oositlerde ICSI'den yaklaşık 16-18 saat

sonra pronükleusun oluştuğu gözlemlendi. Fertilizasyon 2 kesin pronükleusu açıkça içeren nükleolinin görülmesiyle normal olarak değerlendirildi. Fertilize oositin klivajı fertilizasyondan 24 saat sonra izlendi. Embriyolar blastomer büyüklük ve kalitesi ve inokule fragmentin rölatif oranı gibi değerler açısından değerlendirildi. Gebelik oluşumu açısından grade 1 embriyo en iyi kalite olup, grade 3 ve 4 nadiren gebelik oluşturur. Kli ve olan embriyolar oosit toplanmasından 48-56 saat sonra Wallace embriyo transfer katateri (cat. no: 1816N, H.G. Wallace Limited, Colchester, UK) kullanılarak transfer edildi. Luteal faz progesteron vajinal suppozatuar (Utrogestan 100mg, 2x2) ve transfer sonrası +1, +4, +7, +9. günlerde HCG (Pregynl 1500 IU, Organon, Profasi 2000 IU, Serono) ile desteklendi. Serum HCG seviyeleri embriyo transferi sonrası +12. günde ölçüldü. Klinik gebelik serum HCG seviyesi >1000 IU/ml ve intrauterin gestasyonel sak görülmesi olarak tanımlandı. Düşük 20. gebelik haftasından önceki gebelik kaybı olarak tanımlandı.

İstatistik

Fertilizasyon oranları varyans testi (ANOVA) ile, gebelik oranları ise ki-kare testi kullanılarak karşılaştırıldı.

BULGULAR

Toplam 493 infertil erkeğin 122'sinde oligozoospermi (%24.74), 59'unda astenozoospermi (%11.96), 67'sinde teratozoospermi (%13.61) ve 188'inde oligoasthenozoospermi (%38.13) saptandı. Kontrol grubuna ise normal sperm parametreleri olan 57 infertil hasta (%11.56) alındı. Oligozoospermili hastalardaki ortalama sperm sayısı 6.91 ± 5.85 milyon/ml, astenozoospermisi olan hastalardaki ortalama sperm sayısı 42.91 ± 24.13 milyon/ml ve ortalama motiliteleri % 33.13, teratozoospermili hastaların ortalama sperm sayısı 53.67 ± 28.39 milyon/ml, oligoasthenozoospermili hastaların ortalama sperm sayısı

12.98 ± 16.96 milyon/ml ve motiliteleri ise % 37.49 olarak bulundu. Oligozoospermik, astenozoospermik, teratozoospermik, oligoasthenozoospermik ve kontrol grubundaki erkeklerin eşlerinin yaş ortalamaları sırasıyla 31.8 ± 4.6 , 34.7 ± 3.8 , 33.8 ± 4.2 , 31.6 ± 4.7 , 30.2 ± 3.2 olarak saptandı. Bu alt gruplardaki yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Gebelik oranları oligozoospermik grupta %41.3, astenozoospermik grupta %43.9, teratozoospermik grupta %35.9, oligoasthenozoospermik grupta %46.4 ve kontrol grubunda %49.1 olarak saptandı ($p=0.632$, ki-kare testi). Fertilizasyon oranları ise; oligozoospermik grupta %70.9, astenozoospermik grupta %72.8, teratozoospermik grupta %67.4, oligoasthenozoospermik grupta %66.7 ve kontrol grubunda ise %79 olarak saptandı. Grupları karşılaştırmak için varyans analizi uygulandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=0.27$). Bütün parametreler Tablo 1'de ayrıca verilmiştir.

TARTIŞMA

Erkeğe bağlı infertilitede ICSI yöntemi uygulanarak yüksek fertilizasyon ve gebelik oranlarına ulaşılmasıyla birlikte, ICSI yönteminin alanı idiyopatik infertilite, immünolojik infertilite ve daha önce başarısızlıkla sonuçlanmış konvansiyonel in vitro fertilizasyon (IVF) uygulamalarını da kapsamak üzere genişletilmiştir^{9,13-15}. Hatta Aboulghar ve Bükülmez'in yaptığı iki ayrı çalışmada normal sperm parametrelerine sahip tubal faktöre bağlı infertil çiftlerde ICSI yöntemi kullanılmış; ve sonuçları IVF uygulamaları ile karşılaştırılmıştır^{16,17}. Çeşitli araştırmacılar ICSI'de farklı sperm parametrelerinin fertilizasyon ve gebelik oranları üzerine etkisini incelemiştir. Bununla birlikte sonuçlar tutarsızdır. Nagy ve Mansour'un yaptıkları çalışmalarda ICSI'de değişik sperm parametrelerinin gebelik ve fertilizasyon oranlarına etki etmediğini belirttilmiştir^{18,19}.

Sperm Parametre Bozukluğu	Hasta Sayısı (%)	Kadın Yaşı	Fertilizasyon Oranı	Gebelik Oranı
Oligozoospermi	122 (24.74)	32 ± 4.9	%72.5	%41.3
Astenozoospermi	59 (11.96)	34 ± 3.7	%75.7	%43.9
Teratozoospermi	67 (13.61)	35 ± 3.8	%68.2	%35.9
Oligoasthenozoospermi	188 (38.13)	31 ± 4.7	%66.7	%46.4
Kontrol Grubu	57 (11.56)	30 ± 3.2	%79	%49.1

Tablo 1. Sperm parametrelerindeki kadın yaşı, fertilizasyon ve gebelik oranları

Yapılan çalışmalarda ICSI sonuçlarının kru-ger sperm morfolojisiyle ilişkili olmadığı belirtilmiştir, bunun nedeni olarak da embriyolojistlerin ICSI uygulamalarında motil ve normal görünüm- lü spermatozoaları seçebilmeleri gösterilmekte- dir. Bununla birlikte tek başına spermin normal görünümlü olması ICSI başarısı için kaliteli sper- mi sağlayamayabilir. Yine De Vos ve arkadaşla- rının yaptığı çalışmada morfolojik olarak anor- mal spermatozoa kullanılan ICSI uygulamaların- da (%60.7), normal spermatozoa kullanılanlara (%71.7) göre daha düşük fertilizasyon oranları saptanmıştır. Ayrıca normal sperm morfolojili hastalarda gebelik ve implantasyon oranları da (sırasıyla %36.7 ve %18.7) anormal sperm mor- folojili hastalara göre (%20.2 ve %9.6) daha yük- sek bulunmuştur²⁰. Yakın zamanda yayınlanan Alman ICSI izlem çalışma grubunun raporunda ise ICSI sonrası gebelik devamı ve sağlıklı çocuk doğumunda sperm parametrelerine bağlı etki saptanmamıştır²¹.

Çalışmamızda oligozoospermik grupta ferti- lizasyon oranları, teratozoospermik grupta ise ge- belik oranları diğer gruplara göre daha düşük bu- lunmuştur. Ancak bu farklılıklar istatistiksel ola- rak anlam taşımamaktadır. Normal sperm para- metrelerine sahip olan kontrol grubunda ise ferti- lizasyon ve gebelik oranları biraz daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte sperm parametre bozukluklarıyla (Oligozoospermi, asthenozoos- permi, teratozoospermi, oligoastenozoospermi) elde edilen sonuçlarla arasında istatistiksel fark bulunmamıştır. ICSI erkeğe bağlı infertilite teda- visinde halen başarılı bir tedavi yöntemi olarak görülmektedir.

KAYNAKLAR

- 1- **Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC:** Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 340: 17-18, 1992.
- 2- **Van Steirteghem AC, Nagy PZ, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J:** High fertilization and im- plantation rates after intracytoplasmic sperm in- jection. *Hum Reprod*. 8: 1061-1066, 1993.
- 3- **Devroey P, Liu J, Nagy PZ:** Pregnancies after testicular sperm extraction (TESE) and intracyto- plasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 10: 1457-1460, 1994.
- 4- **Tournaye H, Liu H, Nagy PZ:** Correlation bet- ween testicular histology and outcome after intra- cytoplasmic sperm injection using testicular sper- matozoa. *Hum Reprod*. 11: 127-132, 1996.
- 5- **Nagy PZ, Liu J, Janssenwillen C, Silber SJ, Devroey P, Van Steirteghem AC:** Using ejacu- lated, fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa give rise to comparable re- sults after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 63: 808- 815, 1995.
- 6- **Tournaye H, Devroey P, Liu J, Nagy PZ, Lis- sens W, Van Steirteghem AC:** Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplas- mic sperm injection: A new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral ab- sence of the vas deferens. *Fertil Steril*. **61:1045-1051**,1994.
- 7- **Devroey P, Liu J, Nagy PZ, Tournaye H, Sil- ber SJ, Van Steirteghem AC:** Normal fertiliza- tion of human oocytes after testicular sperm ex- traction and intracytoplasmic sperm injection TESE and ICSI. *Fertil Steril*. 62: 639-641, 1994.
- 8- **Nagy ZP, Liu J, Joris H, Verheyen G, Tournaye H, Camus M, Derde MC, Devroey P, Van Steirteghem AC:** Results of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Hum Reprod*. 10: 1123-1129, 1995.
- 9- **Nagy ZP, Verheyen G, Liu J, Joris H, Jans- senswillen C, Wisanto A:** Results of 55 intracy- toplasmic sperm injections in the treatment of male-immunological infertility. *Hum Reprod*. 10: 1775-1780, 1995.
- 10- **Park WYS, Lee SH, Song SJ, Jun JH, Koong MK, Seo JT:** Influence of motility on the outco- me of in Vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection with fresh vs. Frozen testicular sperm from men with obstructive Azoospermia. *Fertility and sterility*. Vol. 80, no. 3, September, 2003.
- 11- **World Health Organization:** Laboratory manu- al for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction; 3rd Ed. New York, Cambridge University Press, pp 13-80, 1993.
- 12- **Kruger TF, Menkveld P, Stander FSH, et al:** Sperm morphologic features as a prognostic fac- tor in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 46: 1118-1123, 1986.
- 13- **Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Sat- tar MA, Amin YM:** Intracytoplasmic sperm in- jection and conventional in vitro fertilization for sibling oocytes in cases of unexplained infertility and borderline semen. *J Assist Reprod Genet*. 13: 38-42, 1986.
- 14- **Aboulgha MA, Mansour RT, Serour GI, Amin YM:** The role of intracytoplasmic sperm injecti-

- on in the treatment of patients with borderline semen. *Hum Reprod.* 10: 2829-2830, 1995.
- 15- **Cohen J, Alikani M, Santiago M, Palermo G:** Micromanipulation in clinical management of fertility disorders. *Semin Reprod Endocrinol.* 12: 151-168, 1994.
 - 16- **Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Amin YM, Kamal A:** Prospective controlled randomized study of in vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection in the treatment of tubal factor infertility with normal semen parameters. *Fertil Steril.* 66: 753-756, 1996.
 - 17- **Bükülmez O, Yarah H, Yucel A, Sarı T, Gürkan T:** Intracytoplasmic sperm injection versus in vitro fertilization for patients with tubal factor as their sole cause of infertility: A prospective, randomized trial. *Fertil Steril.* 73: 38-42, 2000.
 - 18- **Nagy PZ, Verheyen G, Tournaye H, Van Steirteghem AC:** Special applications of intracytoplasmic sperm injection: the influence of sperm count, motility, morphology, source and sperm antibody on the outcome of ICSI. *Hum Reprod.* 13: 143-154, 1998.
 - 19- **Mansour RT, Aboulghar MA, Serour GI, Amin YM, Ramzi AM:** The effect of sperm parameters on the outcome of the sperm injection. *Fertil Steril.* 64(5): 982-986, 1995.
 - 20- **De Vos A, De Velde VH, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A:** Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 79: 428, 2003.
 - 21- **Ludwig M, Katalinic A for the German ICSI Follow-Up Study Group:** Pregnancy course and health of children born after ICSI depending on parameters of male factor infertility. *Hum Reprod.* 18(2): 351-7, 2003.