

Mikro Akışkan Sperm Ayıklama Chip Yöntemi ile İntraUterinİnseminasyon: Olgu Sunumu

IntraUterineInsemination with Micro Fluid Sperm Sorting Chip Method: Case Report

Nazlı CAN¹, Sezen BOZKURT KÖSEOĞLU²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Muğla
²Muğla Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, Muğla

Öz

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) infertiliteyi; bir çiftin bir yıl boyunca düzenli korunmasız cinsel ilişkiye girdiği halde gebe kalamama durumu olarak tanımlamaktadır. İnfertilite üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15 inde gözlenmektedir. Günümüzde ilk basamak yardımcı üreme tekniği intrauterinseminasyon (IUI) yöntemidir. Bu yöntem kontrollü olarak spontan ya da medikal ajanlarla gerekli olgunluğa getirilen kadın üreme hücresi ile uyumlu olarak erkek üreme hücresi olan ve gerekli yıkama işlemlerinden geçirilen sperm bir kateter yardımı ile kontrollü olarak buluşmasını amaçlamaktadır. Sperm yıkama teknikleri dansitegradiyent, yüzdürme ve son dönemde mikro akışkan chip yöntemidir. Sperm yıkamada ana prensip en iyi kalitedeki spermi en hızlı ve en nazik şekilde toplayabilmektir. Bu tür sperm seçiminin ana amacı, DNA fragmentasyonu olmayan çekirdeğe sahip, hareketli, morfolojik olarak normal bir sperm sağlamaktır. Biz bu olgu ile yeni bir teknik olan Mikro akışkan sperm ayıklama chip yönteminin intrauterinseminasyon işleminde kullanılabilirliğini incelemeyi amaçladık.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, İnseminasyon, Sperm

Abstract

World Health Organization (WHO) infertility; a couple's unprotected sexual intercourse for one year. 15% of couples of reproductive age have infertility. Nowadays, the first step assisted reproduction technique is intra uterine insemination (IUI). This method allows the sperm and egg to meet in a controlled manner and with this method, sperm washing process and the catheter allows the determination of sperm into the uterus. Sperm washing techniques are gradient, flotation and micro fluidic chip method. The main principle of sperm washing is to collect the best quality sperm in the fastest and most gentle way. The main purpose of this type of sperm selection, no DNA fragmentation, have a nucleus, motile, is to provide a morphologically normal sperm. In this case, we aimed to investigate the utility of micro fluidic chip technique in insemination process.

Keywords: Infertility, Insemination, Sperm

Giriş

İnfertilite medikal, sosyal, psikolojik ve evlilik içi uyumsuzluk gibi birçok yönden çiftleri olumsuz yönde etkileyen küresel bir sorundur (1,2). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) infertiliteyi, bir çiftin bir yıl boyunca düzenli korunmasız cinsel ilişkiye girdiği halde gebe kalamama durumu olarak tanımlamaktadır (3). Günümüzde üreme çağındaki çiftlerin % 10-15'inde infertiliteye rastlanmaktadır (4,5). Çiftlerin yaklaşık olarak %40'ında kadın kaynaklı infertilite, %40'ında ise erkek kaynaklı infertilite durumu ile karşılaşılmaktadır. Bu çiftlerin geriye kalan %20'sinde ise kombine nedenler mevcuttur (6). Günümüzde ilk basamak yardımcı üreme tekniği inta uterin inseminasyon (IUI) yöntemidir (7). Bu yöntem, kontrollü olarak spontan ya da medikal ajanlarla gerekli olgunluğa getirilen kadın üreme hücresi ile gerekli yıkama

işlemlerinden geçirilen sperm bir kateter yardımı ile kontrollü olarak buluşmasını amaçlamaktadır. IUI işleminin başarı oranı ortalama %10-12 arasındadır (3). Günümüzde teknolojinin gelişmesi ile birlikte sperm yıkama teknikleri de gelişmektedir (8). Mikro akışkan sperm ayıklama chip yöntemi (Mikro Chip) diğer genel yıkama yöntemlerine nazaran santrifüjasyon basamağı olmaması ve sperme kapasitasyon mekanizmasının gerçekleşebilmesi için zaman tanınması adına son dönemde popüler bir yöntem olarak rutinde kullanılmaya başlanmıştır (9).

Bu olgu sunumunda tekrarlayan IVF başarısızlığı bulunan hastaya uygulanan ve gebelik elde edilen IUI işlemi anlatılmaktadır.

Olgu

Dış merkezde başarısız bir IVF ve bir IUI denemesi olduğu bilinen ve 3 yıllık infertilite öyküsü ve çocuk istemi ile polikliniğimize başvuran 28 yaşındaki bayan hastanın ayrıntılı öyküsü alınarak fiziksel muayenesi yapıldı. Daha önce dış merkezde yapılan histerosalpingografide bilateral tubalar açık ve uterin kavite normaldi. Fizik muayenesinde vulva, vajen ve serviks normal, ultrasonografide uterus ve overler normal olarak izlendi. Hastaya ait menstural siklusun 3. günü hormon değerleri; folikül stimüle edici hormon 6.17 mIU; lütenize edici

ORCID No
Nazlı CAN 0000-0003-2023-8246
Sezen BOZKURT KÖSEOĞLU 0000-0002-6381-8059

Başvuru Tarihi / Received: 09.09.2019
Kabul Tarihi / Accepted : 08.01.2020

Adres / Correspondence : Nazlı CAN
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Muğla
e-posta / e-mail : nazlican@mu.edu.tr

hormon 6.34 mIU; estradiol E227.16 mIU; prolaktin 40.1 mIU; tiroid stimüle edici hormon 2.2 mIU; serbest T4 16.84 mIU idi. Servikovajinal smear testi intraepitelyal lezyon yönünden negatifti. Eşinin 3 günlük cinsel perhiz sonrası sperm parametreleri sperm volümü: 3ml, pH alkali; Likefaksiyon 15 dk; sperm konsantrasyonu; 18 milyon, total sperm sayısı; 54 milyon, total hareket; %61, total progresif hareket; %60, ileri hızlı hareket %20, ileri yavaş hareket; %40, yerinde hareket; %1 hareketsiz sperm sayısı; %39 ve lökosit oranı; 1 milyon idi ve viskozite ve aglutasyon yoktu.

Çifte "açıklanamayan infertilite" tanısı ile IUI planlandı. Kadın hastaya menstural siklusunun 3. günü, daha önceki IUI denemesinde 50 mg klomifen sitrattan yanıt almaması nedeni ile 100 mg/gün klomifen sitrat başlandı. Menstural siklusunun 12. gününde dominant folikülün 24 mm'ye ulaşması nedeni ile folikül 24 mm idi. 250 mikrogram Choriogonadotropin Alfa ve 36 saat sonrasında IUI yapıldı. Fakat 2 hafta sonra hasta adet görme sebebi ile polikliniğimize başvurdu. Çiftin çocuk isteminin devam etmesi üzerine tekrar aynı protokolle IUI yapıldı fakat yine gebelik elde edilmedi.

Takiben hastaya gonodotropin ile ovulasyon indüksiyonu sonrası IUI planlandı. Yetmiş beş IU rekombinant FSH ile ovulasyon indüksiyonuna başlandı. Dominant folikül elde edilince (22 mm) 250 mikrogram Choriogonadotropin Alfa cilt altına yapıldı. Enjeksiyon sonrası 36. saatte mikro chip yöntemi ile sperm yıkaması yapıldı. Yıkama sonuçları; sperm volümü: 0.5 ml, sperm konsantrasyonu; 5 milyon, total hareket; %61, total progresif hareket; %100, ileri hızlı hareket %45, ileri yavaş hareket; %55, yerinde hareket; %0, hareketsiz sperm sayısı; %0 idi. Yıkama sonrası elde edilen total volümü 0.5 ml olan sperm ile IUI işlemi yapıldı.

Hasta 3 hafta sonra adet gecikmesi ile polikliniğimize başvurdu. Yapılan beta HCG tetkiki 4590 IU idi. Gebeliğinin 6. haftasında fetal kalp atımları pozitifleşti. Hastadan çalışma ile ilgili onam 03.10.2019 tarihinde alındı.

Gebelik 21. haftaya kadar kontrollü olarak takiplerle olağandı. Hasta 21 hafta 1 günlük iken karın ağrısı ve su gelmesi şikayeti ile acile başvurdu. Amnisure testi pozitif 2 cm servikal açıklığı mevcuttu. Hasta su gelişi nedeniyle doğum servisine yatırıldı. Genel durumu iyi vitaller sitabil olan hastaya antibiyotik başlandı takibe alındı. Takiplerinde servikal açıklık ilerledi ve membran rüptürü gelişti. 23 hafta gebeliği olan hasta 3. basamak yenidoğan yoğun bakım ünitesi olan bir merkezde makat geliş olması nedeni sezeryan ile doğum yaptırıldı. 470 gram olan bebek doğumunun 2. saatinde ex oldu.

Hastaya apendektomi yapıldı. İnguinal herni Bassini yöntemi ile opere edildi. Hastaya intraoperatif olarak 1. kuşak sefalosporin uygulandı. Postoperatif dönemde 1. kuşak sefalosporin tedavisi devam etti. Hastanın postoperatif takiplerinde

komplikasyon gelişmedi ve hasta postoperatif 4. günde taburcu edildi. Postoperatif altıncı ayda yapılan yüzeysel doku ultrasonografisinde nüks herni gözlenmedi.

Tartışma

Bu çalışmada, tekrarlayan IVF başarısızlığı olan çiftte mikro akışkan chip yöntemi ile hazırlanan spermle yapılan ve gebelik elde edilen intrauterinseminasyon olgusunu sunmayı amaçladık. İnfertilite, dünya çapında 485-186 milyon çiftin etkilendiği global bir sağlık sorunudur ve bu vakaların %20-70 gibi yüksek bir oranı erkek faktörü ile ilişkilendirilmektedir(10). Erkek infertilitesine karşı koymak için önemli bir yaklaşım, spermatozoanın optimum seçimine dayanır. Spermatozoanın tubauterinalara ulaşabilmesi için istikrarlı bir yolculuk yapması gerekir. Bu nedenle, hareketlilik fertilité için en önemli önkoşullardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır (11). Sperm yıkama tekniklerinde, hareketli ve fonksiyonel olarak yetkin spermatozoa popülasyonu sağlayan ileri hareketliliğe dayanan bir seçim yöntemi arzu edilmektedir (12). Klinik veriler döllenme problemleri ve anormal embriyo gelişiminde erkek faktörünün etkinliğini desteklemekte ve optimum sperm seçimine duyulan ihtiyacı vurgulamaktadır (13).

Sperm yıkama yöntemlerinin temel amacı seminal sıvıda bulunan istenmeyen biyokimyasal ajanlar ve sperm dışı yuvarlak hücrelerin uzaklaştırılması ve sonuç olarak dölleme kapasitesi olan en iyi spermleri seçmektir (14). İyi kalitede spermi seçmede morfolojik özellikler, sayı ve hareketliliğin yanında günümüzde sperm DNA fragmentasyon testlerinden de faydalanılmaktadır (15). Günümüzde en iyi spermatozayı seçmeye yönelik geliştirilen konvansiyonel sperm yıkama teknikleri dansitegradiyent yöntemi ve swim-up (yüzdürme) yöntemidir (3). Swim-up yönteminde ileri hareketli spermlerin hareketsiz ve yerinde hareketli spermlerden kendi hareket yetenekleri kullanılarak yüzdürme solüsyonu içerisinde en üste yüzmeleri ve en üst 0.5 mikronluk kısımdaki spermlerin en iyi kalite spermler olduğu prensibine dayanır. Ancak bu yöntem sadece iyi kalitede sperm parametrelerine sahip hastalara kullanılabildiği gibi bu yöntemde az sayıda hareketli sperm eldesi sağlanmaktadır (16). Dansitegradiyent yönteminde ise spermler yoğunluklarına göre ayrıştırılırlar. Santrifugasyon gerektiren bu işlem de en alt tabakaya inen spermler en iyi morfolojiye sahip spermler olarak kabul edilir bu yöntem referans değerinin altında sperme sahip kişilerde uygulanabilen bir yöntem olmasına karşın santrifugasyon işleminin sperm canlılığına negatif etkisi olabildiği ve sperm DNA kırıklıklarına yol açabildiği bildirilmiştir (17). Bizim hastamızda da daha önceki inseminasyon denemelerinde spermler dansitegradiyent yöntemi ile hazırlanmıştı ve

gebelik elde edilememiştir. Geliştirilen yeni sperm seçim teknolojilerinde, yardımcı üreme teknikleri (YÜT)'ün başarısını arttırmak için başarılı spermelere daha çok odaklanılmaktadır. Sperm hazırlanmasında kullanılan mikro chip yöntemlerinin ortaya çıkış amacı hızlı, daha nazik, doğal şartları taklit ederek spermelere zarar vermeden uygun olanını seçmektir (18). Spermatozoanın döllenme bölgesine ulaşmasını sağlayan kılavuz mekanizmaları temel olarak akışkanlar mekaniğine dayanır. Bu mikroakışkanlar, spermeleri normal morfoloji, hareketlilik ve IVF teknikleri için daha yüksek DNA bütünlüğüne göre sıralamak için mikro kanalları kullanır. Küçük sperm örnek hacimleriyle çalışma potansiyeli, kısa işlem süreleri ve tek hücrelerin invaziv olmayan bir şekilde manipüle etme kabiliyeti gibi geleneksel seçim tekniklerine kıyasla önemli avantajlar gösterilmiştir (10). Döllenme için başarılı sperm, iyi morfolojiye, doğru yapıya, motiliteye ve normal genomik içeriğe sahip olmalıdır (17). Quinn ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada dansitegradient ve mikro chip yöntemleri karşılaştırılmıştır. Mikro chip yönteminde DNA fragmentasyon oranının dansitegradient yöntemine kıyasla neredeyse %0 olacak kadar azaldığını bildirmişlerdir. Ancak bu çalışmada IVF tedavisinde esas sonuç olan gebelik oranları ile ilgili bir değerlendirme yapılmamıştır (19). Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada açıklanamayan infertilite şikayeti ile YÜT'e başvuru hastalar arasında swim-up ve mikro chip yöntemleri karşılaştırılmıştır. Bu araştırmaya göre, sebebi bilinmeyen tüp bebek hastalarında swim-up ve mikro chip yöntemleri kıyaslanmaktadır. Bu araştırmaya göre gebelik oranları ve döllenme oranları arasında fark bulunmamıştır (14). YÜT ile elde edilen gebeliklerde preeklampsi, gestasyonel diabet gözlenme oranlarında artış olduğu, preterm doğum, düşük doğum ağırlığı, yapısal ve kromozomal anomaliler ve kromozom defektlerinde bir artış olduğu, mekanizması tam bilinmemekle birlikte ektobik gebelik riskinin yaklaşık iki kat arttığı bildirilmiştir (20). YÜT kullanılarak oluşan gebeliklerde konjenital anomaliye sahip canlı doğum oranında %29-%41 oranında artış olduğu bildirilmektedir (21-23). Yapılan başka bir çalışmada spontan gebelik sonrası dünyaya gelen bebeklerde konjenital anomali oranı %4.2 iken YÜT kullanılarak elde edilen gebelik bebeklerinde bu oran %9 olarak bulunmuştur (20). Yine yapılan başka bir çalışmada YÜT ile elde edilen gebeliklerde perinatal mortalite ve ölü doğum oranlarında, spontan gebeliklere oranla 4 kata kadar artış olduğu gösterilmiştir (24). YÜT gebeliklerinde plasenta dekolmanının 2.4 kat, plasenta previa olgularının 6 kat arttığı gösteren yayınlar mevcuttur (20).

Daha önce dış merkezde bir başarısız IVF ve bizim merkezimizde iki başarısız IUI denemesi olan hastaya 3. IUI denemesinde mikro chip tekniğini kullanıldı ve gebelik elde edildi. Üreme yardımcı

tekniklerde IUI işlemi diğer ÜYTE tekniklerine göre çok daha düşük maliyetli olması ve çok daha az invaziv bir işlem olması nedeni ile ilk tercih edilen bir yöntemdir (7). Bu olguda başarısız IVF ve IUI denemeleri sonucu 3. IUI denememizde gebelik elde ettik. Gebelik 21. gebelik haftasına kadar olağan devam etmiştir. Daha sonra membran rüptürü gelişen hastaya sezeryan ile gebeliğin 23. haftasında doğum yaptırılmış ve bebek iki saat sonra ex olmuştur. Erkek membran rüptürü etyolojisini açıklamak üzere pek çok teori öne sürülmüştür. Bu teorilerin çoğu membranların mekanik bütünlüğünün bozulması esasına dayanır. YÜT ile elde edilen gebeliklerde erken membran rüptürü olgularında normal yolla gerçekleşen gebeliklere oranla artış olduğu vurgulanmakta YÜT ile elde edilen tekil gebeliklerde kötü perinatal sonuçların nedenini araştıran bir meta-analizde özellikle gebelik oluşana kadar geçen sürenin 1 yılın üzerinde olması olarak tanımlanan subinfertilitenin kötü perinatal sonuçları açıklayan en önemli faktör olduğunu bildirilmektedir (25).

Sonuç olarak biz de yazımızda literatürü destekler biçimde daha önce geleneksel sperm hazırlama yöntemleri ile inseminasyon yapılan ve gebelik elde edilemeyen hastanın, ilk kez mikrochip yöntemi ile hazırlanan spermeleri ile gerçekleştirilen IUI sonrası gebelik elde edildiğini göstermiş olduk.

Hasta Onamı: Hasta onamı 03.08.2019 tarihinde alınmıştır.

Kaynaklar

1. Subedi S, Lamichhane S, Chhetry M. Study of Infertile Couples Attending a Teaching Hospital in Eastern Nepal. JNMA J Nepal Med Assoc. 2016;55(203):22-5.
2. Inhorn MC, Patrizio P. Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive Technologies and global movements in the 21st century. Hum Reprod Update. 2015; 21:411-26.
3. World Health Organization: Laboratory manual for the examination and processing of human semen and Sperm Cervikal Mucus Interaction, 5th ed. Cambridge: Cambridge Uni. WHO Press, 2010.
4. Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8nd edition. 2011:978-1005.
5. Palermo GD, O'Neill CL, Chow S, et al. The Ronald O. Perleman and Claudia Cohen Intracytoplasmic sperm injection: state of the art in humans. Reproduction. 2017; 154(6):93-110.
6. Çokan Dönmez, Ç, Güner Emül, T. İnfertilite Tedavisinde Ortaya Çıkan Komplikasyonlar ve Hemşirelik Yaklaşımları. J Soc Human Sci Res. 2019; 6(43): 2958-66.
7. Abbas RH, Abbas SH. İnter uterine İnsemination (IUI) Pregnancy Rate After Hysterosalpingo graphy (Hsg) World. J Pharma Res. 2018; 7(18):185-91.
8. Aşghar W, Velasco V, Kingsley JL, et al. Selection of functional human sperm with higher DNA integrity and fewer reactive oxygen species. Adv Healthc Mater. 2014;3(10): 1671-79.
9. Cho CL, Agarwal A, Majzoub A, Esteves SC. A single cut-off value of sperm dna fragmentation testing does not fit all. Transl Androl Urol 2017; 6:501-3.
10. Nagata B, Endo K, Ogata K, et al. Live births from artificial insemination of micro fluidic sorted bovine spermatozoa

- characterized by trajectories correlated with fertility. PNAS. 2018;115(14):3087-96.
11. Brown SG, Publicover SJ, Barratt CLR, Silva SJ Human sperm ion channel (dys) function: implications for fertilization. Hum Reprod. 2019; 25(6): 758–76.
 12. Barroso G, Valdespin C, Vega E, et al. Developmental sperm contributions: fertilization and beyond. Fertil Steril. 2009;92(3):835-48.
 13. Loutradi KE, Tarlatzis BC, Goulis DG, et al. The effects of sperm quality on embryo development after intra cytoplasmic sperm injection. J Assist Reprod Genet. 2006;23(2):69–74.
 14. Henkel RR, Schill WB. Sperm preparation for ART. Reprod Biol Endocrinol. 2003;1: 108-29.
 15. Sugihara A, Van Avermaete F, Roelant E, Punjabi U, De Neubourg D. The role of sperm DNA fragmentation testing in predicting intra-uterine insemination outcome: A systematic review and meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020;244:8-15.
 16. Magdanz V, Boryshpolets S, Ridzewski C, Eckel B, Reinhardt K. The motility-based swim-up technique separates bull sperm based on differences in metabolic rates and tail length. PLoS One. 2019;10;14(10).
 17. Zini A, Finelli A, Phang D, Jarvi K. Influence of semen processing technique on human sperm dna integrity. Urology. 2000; 56: 1081-4.
 18. Stianvnická M, Abril-Parreño L, Nevorál J, Kralickova M, Garcia-Álvarez O. Non-Invasive Approaches to Epigenetic-Base Sperm Selection. Med Sci Monit. 2017; 23: 4677-83.
 19. Quinn MM, Jalalian L, Ribeiro S, et al. Micro fluidic sorting selects sperm for clinical use with reduced DNA damage compared to density gradient centrifugation with swim-up in split semen samples. Hum Reprod. 2018; 33: 1388-93.
 20. Kissell KA, Danaher MR, Schisterman EF, et al. Biological variability in serum anti-Mullerian hormone throughout the menstrual cycle in ovulatory and sporadic an ovulatory cycles in eumenorrheic women. Hum Reprod. 2014;29(8):1764-72.
 21. Kedem A, Haas J, Geva LL, et al. Ongoing pregnancy rates in women with low and extremely low AMH levels. A multivariate analysis of 769 cycles. PLoS One. 2013;8(12):81629-92.
 22. Reichman DE, Goldschlag D, Rosenwaks Z. Value of antimullerian hormone as a prognostic indicator of in vitro fertilization outcome. Fertil Steril. 2014;101(4):1012-8.
 23. Practice Committee of the American Society for Reproductive M. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. Fertil Steril. 2015;103(3):9-17.
 24. La Marca A, Broekmans FJ, Volpe A, Fauser BC, Macklon NS. Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know? Hum Reprod. 2009;24(9):2264-75.
 25. Gezginç K, Selimoğlu R, Yazıcı F. Erken Membran Ruptürüne Güncel Yaklaşım. Selçuk Tıp Derg. 2013;29(1):42-8.