

Klinefelter Sendromulu Hastalarımızın Tese ve ICSI Sonuçları

Erkan Özdemir*, Ufuk Öztürk**, Sevtap Kılıç***, Ahmet Yeşilyurt****, Nedim Cicek***, Abdürrahim İmamoğlu**

Özet:

Amac: Jinekomasti, hipergonadotropik hipogonadizm ve infertilite triadı ile bilinen Klinefelter Sendromu infertil erkeklerde görülen en sık kromozomal anomalidir. Klinefelter Sendromu olan hastalar geleneksel olarak komplet germ hücre aplazisi nedeni ile infertil olarak bilinirler. Ancak son zamanlarda geliştirilen testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yöntemlerle bu hastalar da çocuk sahibi olabilmektedir.

Yöntem: Sağlık Bakanlığı Zekai Tahir Burak Hastanesi İnfertilite Merkezi Üroloji Polikliniğine infertilite nedeni ile başvuran hastalarda azospermi tespit edilen ve genetik değerlendirme sonucunda Klinefelter Sendromu teşhisi koyulan 17 hasta değerlendirmeye alındı.

Bulgular : 16 Hasta klasik (non-mozaik),1 hasta mozaik paterne sahipti.Fenotipik olarak 4 hastada atrofik testisler dışında normal erkek fenotipi, diğer hastalarda ise Klinefelter Sendromu için klasik olarak kabul edilen fenotipik özellikler görülmekteydi. Mikrodisseksiyon TESE işlemi ile 6 hastada (% 35.29) spermatozoa bulundu. Bu 6 hastaya ICSI uygulandı ve 2 hastada gebelik elde edildi.

Sonuç: Klinefelter Sendromlu hastalarda nonobstruktif azospermik hastalara yakın oranlarda testiküler spermatozoa elde edilebileceğini, ICSI yöntemi ile gebelik de sağlanabileceğini ve ciddi infertil erkek olguların değerlendirilmesinde genetik testlerin önemini bir kez daha vurgulamak istedik.

Anahtar kelimeler: Klinefelter Sendromu, sperm eldesi, İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu.

Çiftlerin yaklaşık %15'inde infertilite problemi vardır. İnfertilite nedeni ile araştırılan çiftlerin yaklaşık yarısında erkeklerde patoloji tespit edilmektedir. Erkeğe ait infertilite nedenleri içerisinde de genetik nedenlerin önemli bir yer tuttuğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir.^{1, 2}

İnfertil olgularda en sık rastlanan kromozomal anomali ise Klinefelter Sendromudur.^{3, 4}Sendrom 1942 yılında Klinefelter tarafından tanımlanmıştır ve jinekomasti, hipergonadotropik hipogonadizm ve infertilite triadı ile bilinir.⁵ Klinefelter sendromu klinik olarak normal erkekten, sekonder seks karakterlerinde immatürasyon

tespit edilen olgulara kadar geniş bir aralıkta olabilir. Bu olgular genellikle erişkin çağda infertilite, jinekomasti ve hipotrikozis (özellikle fasiyal) şikayetleriyle kliniklere başvururlar. Tanıda altın standart periferik kandan yapılan kromozom analizidir. Ayrıca tanıda yanak mukozasından Barr body bakılması ve özellikle mozaizmden şüphe edilen durumlarda Floresan In Situ Hibridizasyon (FISH) yöntemleri de kullanılabilir. Olguların %20'sinde mozaizim tespit edilir. Bunlardan en sık rastlanana ve fenotipik etkilenmenin daha az olmasının beklendiği 46,XY/47,XXY mozaizmidir. Bununla birlikte X kromozomu sayısının ikiden fazla olduğu-(48 XXXY, 49 XXXXY vb.) çeşitli mozaikliklerde tespit edilebilir. Bu hastalarda infertilite nedeni olarak ekstra X kromozomunun germ hücreleri üzerinde yaptığı delesyon suçlanmaktadır.⁶ Klinefelter Sendromu olan hastalar geleneksel olarak komplet germ hücre aplazisi nedeni ile infertil olarak bilinirler. Ancak total germ hücre yokluğu kural değildir. Bazı hastalarda spermatogenezis odağı olabilmekte ve

*Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği

**Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve araştırma hastanesi 4. Üroloji Kliniği

***Dr. Zekai Tahir Burak. Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi IVF Departmanı

****Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Departmanı

Yazışma Adresi: Dr. Sevtap Kılıç

Süleyman bey sok 29/10 Maltepe /ANKARA

Tablo 1: Spermatozoa elde edilen ve edilemeyen gruplar fiziksel ve hormonal özellikleri.

	Spermatozoa +	Spermatozoa -	P değeri
Ortalama yaş	31.2	32.3	P < 0.05
Ortalama FSH (mIU/ml)	39.4	42.1	P < 0.05
Ortalama T Tes (ng/ml)	2.24	2.76	P < 0.05
Ortalama Testis Volümü (cc)	1.8	1.7	P < 0.05

bu hastalar son zamanlarda geliştirilen testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yöntemlerle çocuk sahibi olabilmektedir.⁷

Gereç Ve Yöntem

Aralık 2006- Şubat 2008 tarihleri arasında Sağlık Bakanlığı Zekai Tahir Burak Hastanesi İnfertilite Merkezi Üroloji Polikliniğine infertilite nedeni ile başvuran hastalarda azospermi tespit edilen ve genetik değerlendirme sonucunda Klinefelter Sendromu teşhisi koyulan 17 hasta değerlendirildi.

Tüm hastalarda anamnez, fizik muayene, testis boyutları ölçümü, Testosteron (Tes), Follikül stimüle edici hormon (FSH), Luteinize edici hormon (LH) ve prolaktin ölçümü uygulandı. Spermogram WHO kriterlerine göre en az 2 kez yapıldı ve tüm hastaların pellet testinin negatif olduğu gözlemlendi.

Kromozom analizi için hastalardan %10 oranında heparinize edilmiş 1 ml periferik kan alınarak 0,5 ml olarak iki ayrı tüpte kültüre edildi. Kültürlerin 48. Saatinde 0,1 ml timidin solüsyonu eklendi. 16 saat sonra kültürler santrifüj edilerek hücreler çöktürüldü ve süpernatant atılarak taze medium eklendi. 3 saat sonra 0,2 ml kolşisin solüsyonu eklendi ve 1 saat bekletildi. Süre sonunda kültürler santrifüje edilerek hücreler çöktürüldü ve üzerlerine taze fiksatif (1 kısım asetik asit: 3 kısım metanol) eklendi. Bu işlem 2 kez tekrarlandı. Elde edilen hücreler temiz bir lam yüzeyine yayılarak 1 saat 75 °C'de yaşlandırıldı. Daha sonra Giemsa-Tripsin Bantlama (GTG) yöntemi kullanılarak boyanan lamlardan 500-550 bant seviyesindeki yeterli kalitede en az 20 metafaz analiz edildi.

TESE ve ICSI prosedürleri öncesi hastaların aydınlatılmış onam belgesi ile izinleri alındı.

Testiküler sperm eldesi için mikrodiseksiyon TESE (mikro TESE) yöntemi kullanıldı. İşlem lokal anestezi altında gerçekleştirildi. Skrotal rafeye yapılan insizyondan ulaşılan tunika albuginea geçilerek testis dışarı alındı. Testisin damar yapısı gözlenerek orta hatta vertikal geniş bir insizyon yapıldı. 24 optik büyütme altında testiküler parankim incelenerek daha parlak ve

dolgun görümlü seminifer tubuller mikro penset ile toplandı. Toplanan materyal embryolog tarafından parçalanıp homojenize edildi ve ışık mikroskopunda x200 büyütme altında incelendi. Tek tarafta yapılan incelemede spermatozoa saptanmazsa aynı işlem diğer testise de uygulandı.

Testiküler spermatozoa elde edilebilen 6 hasta ve eşine ICSI uygulandı.

Bulgular

Toplam 17 Klinefelter Sendromlu hasta değerlendirmeye alındı. 16 Hasta klasik (non-mozaiik), 1 hasta mozaiik paterne sahipti. Hastaların 4'ü hariç diğerlerinde kullandırmada azalma, uzun ekstremite uzun boy gibi onükoid iskelet yapısı, atrofik testisler, 8 hastada ise jinekoma vardı. 4 hastada ise atrofik testisler dışında normal erkek fenotipi vardı.

Tümü azospermik 17 hastanın ortalama yaşları 31.8 (25-36) idi. Total testesteron seviyeleri 0,86-3,78 ng/ml arasında değişmekte olup, 4 hasta normal Testosteron seviyesine sahipti. Bu 4 hastanın 2'sinde TESE ile spermatozoa bulundu. Hastaların FSH seviyeleri 36,2-50,4 mIU/ml, LH seviyeleri ise 23,2-37,3 mIU/ml arasında değişmekte idi.

Mikro TESE işlemi ile 6 hastada (% 35.29) spermatozoa bulundu. 5 Hasta nonmozaiik, 1 hasta mozaiik paterne sahipti. Hastalarda postoperatif komplikasyon gelişmedi.

Bu 6 hastaya ICSI uygulandı, mozaiik hastada ve 1 nonmozaiik hastada ilk denemede gebelik elde edildi. Testiküler spermatozoa bulunan ve bulunamayan grupların Tes, FSH, LH seviyeleri ve testis volümleri ve yaşları arasında istatistiksel olarak fark yoktu (Tablo 1). Hiçbir hastada Y kromozomu mikrodeseksiyonu tespit edilmedi. Hastaların testis dokularının patolojik incelemesinde ise mozaiik hasta ve 2 nonmozaiik hastada az sayıda seminifer tübüllerde az sayıda germ hücreleri farklı matürasyon basamaklarında izlenmekte idi. Diğer hastalarda ise Leydig hücre hiperplazisi yanında Sertoli cell- only sendromu veya tübüler hyalinizasyon şeklindeydi.

İstatistiksel analiz: Veriler SPSS 14;0 istatistik programı kullanılarak Windows altında

kaydedildi. Non – parametrik istatistik metodları kullanılarak mann-Whitney-U testi ile karşılaştırmalar yapıldı. Sonuçlarda median range değerlerinde P değeri (< 0,05) istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

Tartışma

Bir ekstra kromozomla karakterize Klinefelter Sendromu; hipofiz bezinin feedback inhibisyonunun olmaması nedeni ile yüksek gonadotropin seviyesi ile karakterize primer testiküler yetersizliğin bir formudur.⁸ 500 canlı erkek doğumda bir görülür.⁹

Hastalarda klasik olarak uzun boy, uzun ekstremite, obezite, jinekomasti, hafif zeka geriliği, atrofik testisler ve infertilite görülmekle beraber son yıllarda normal mental yapıda ve normal erkek fenotipinde olgular bulunabileceğinden de bahsedilmektedir.¹⁰ XXY/XY mozaizmi olan vakalara azoospermik olabileceği gibi oligospermik de olabilir.⁴

Azoospermik ve oligospermik erkeklerde çocuk sahibi olma imkanı sağlayan yardımcı üreme tekniklerinden ICSI 1992'den beri yaygın olarak kullanılmaktadır.^{11, 12, 13} Azoospermik hastalarda testiküler spermatozoa elde edebilmek için ince iğne aspirasyon biopsisi, perkütan biopsi ve açık cerrahi yöntem ile çoklu biopsi gibi yöntemler tanımlanmışsa da ilk kez Schlegel tarafından tanımlanan mikro TESE tekniği güvenilirliği ve yüksek spermatozoa bulma oranları ile pek çok merkezde yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁴

Bu prosedürlerin kullanımı önceleri steril olarak kabul edilen Klinefelter Sendromlu hastalar için de çocuk sahibi olabilmek açısından umut ışığı olmuştur ve 1996 yılında Palermo ve arkadaşları tarafından ilk sağlıklı çocuk doğumu bildirilmiştir.¹⁵ Daha sonra bu hastalarda başarılı testiküler spermatozoa eldesi ve gebelik sonuçları ile ilgili bazı bildiriler görmekteyiz.

Ju Tae ve ark. yayınladıkları bildirilerinde 25 nonmozaik Klinefelter Sendromlu hastanın 4'ünde TESE ile spermatozoa bulduklarını ve 2 gebelik elde ettiklerini, 11 mozaik hastanın ise 6'sında spermatozoa bulup 2 hastada gebelik oluştuğunu bildirmişlerdir.¹⁶ Başka bir çalışmada ise 26 Klinefelter Sendromlu hastanın 13'ünde mikro TESE ile spermatozoa bulunmuş ve 3 çiftte gebelik elde edilebilmiştir.¹⁷ Literatüre göre Klinefelter Sendromlu hastalarda TESE ile sperm bulma oranları %20'ler ile %70'ler arasında değişmektedir.^{18, 19, 20} Bizim hastalarımızda elde ettiğimiz TESE ve ICSI sonuçlarının da literatürle benzer olduğunu görüyoruz.

Azoospermik Klinefelter Sendromlu hastalarda bir problem de vakaların yaklaşık yarısında spermatozoa elde edememek, TESE prosedürü gibi ekonomik ve emosyonel açıdan önemli devaskularizasyon, fibrozis gibi testis dokusunda azalma ile sonuçlanabilecek medikal komplikasyonları da olabilen bir işlemi gereksiz yere yapmak gibi yorumlanabilir. Ancak ne yazık ki bu hastalarda da nonobstruktif azoospermik hastalarda olduğu gibi testiküler spermatozoa olup olmadığını kesin olarak gösteren belirteçler henüz elimizde yoktur.²¹ Bizim elde ettiğimiz sonuçlar da bunu doğrulamaktadır.

Bu makalemizde sonuç olarak Klinefelter Sendromlu hastalarda nonobstruktif azoospermik hastalara yakın oranlarda testiküler spermatozoa elde edilebileceğini, ICSI yöntemi ile gebelik de sağlanabileceğini ve ciddi infertil erkek olguların değerlendirilmesinde genetik testlerin önemini bir kez daha vurgulamak istedik.

Tese And ICSI Results Of The Patients With Klinefelter Syndrome

Abstract:

Aim: Klinefelter Syndrome which is known as the triad of gynecomasty, hypergonadotrophic hypogonadism and infertility, is the most frequent chromosomal abnormality in infertile man. These patients are usually known as infertile due to complete germ cell aplasia. But these patients are also able to have children after the introduction of testicular sperm extraction (TESE) and intrasaytoplasmic sperm injection (ICSI). Our aim was to investigate the possible direct effect of klinefelter syndrome on ICSI outcome

Method: 17 patients who have applied to the Infertility Department of Dr. Zekai Tahir Burak Woman Health Education and Research Hospital because of infertility and who have azoospermia and diagnosed Klinefelter Syndrome were evaluated. 16 of them had classic (non-mosaic) and 1 of them has mosaic pattern. 4 of them had normal male phenotype except testicular atrofi, and other patients had classic phenotypical futures for Klinefelter Syndrome.

Results: Testicular spermatozoa were retrieved successfully in 6 (35.29 %) of the 17 patients by TESE. ICSI was applied to these 6 patients and in two of them pregnancy was achieved.

Conclusion: We want to emphasize once more that sperm retrieval in man with Klinefelter Syndrome are comparable with other man with nonobstruktive azoospermia, pregnancy could be obtained by ICSI method in these patients, and genetic tests are very important in evaluation of serious infertile male cases.

Key Words: Klinefelter syndrome, sperm available, intrasaytoplasmik sperm inject

Kaynaklar

1. Abramsson L, Beckman G, Duchek M, Nordenson I. Chromosomal aberrations and male infertility. *J Urol.* 1982 Jul;128: 52-3.
2. Kleiman SE, Yogev L, Gamzu R et al. Genetic evaluation of infertile men. *Hum Reprod.* 1999 Jan;14: 33-8.
3. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in male infertility: a review. *Hum Reprod.* 1991 Feb;6: 245-50.
4. Bielanska M, Tan SL, Ao A. Fluorescence in-situ hybridization of sex chromosomes in spermatozoa and spare preimplantation embryos of a Klinefelter 46,XY/47,XXY male. *Hum Reprod.* 2000 Feb;15: 440-4.
5. Klinefelter HF, Reifenstein EC, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without a-leydigism and increased secretion of follicle-stimulating hormone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1942;2: 615-622.
6. Aksglaede L, Wikström AM, Rajpert-De Meyts E, Dunkel L, Skakkebaek NE, Juul A. Natural history of seminiferous tubule degeneration in Klinefelter syndrome. *Hum Reprod Update.* 2006 Jan-Feb;12: 39-48.
7. Denschlag D, Tempfer C, Kunze M, Wolff G, Keck C. Assisted reproductive techniques in patients with Klinefelter syndrome: a critical review. *Fertil Steril.* 2004 Oct;82: 775-9.
8. Capell PT, Paulsen CA, Derleth D, Skoglund R, Plymate S. The effect of short-term testosterone administration on serum FSH, LH and testosterone levels: evidence for selective abnormality in LH control in patients with Klinefelter's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1973 Nov;37: 752-9.
9. Nielsen J, Wohlert M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Hum Genet.* 1991 May; 87: 81-3.
10. Damani MN, Mittal R, Oates RD. Testicular tissue extraction in a young male with 47,XXY Klinefelter's syndrome: potential strategy for preservation of fertility. *Fertil Steril.* 2001 Nov;76: 1054-6.
11. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 1992 Jul 4;340: 17-8.
12. 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.* 1995 Jan;10: 148-52.
13. 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.* 1996 Jun;11: 1343-6.
14. Schlegel PN. Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Hum Reprod.* 1999 Jan;14: 131-5.
15. Palermo GD, Schlegel PN, Colombero LT, Zaninovic N, Moy F, Rosenwaks Z. Aggressive sperm immobilization prior to intracytoplasmic sperm injection with immature spermatozoa improves fertilization and pregnancy rates. *Hum Reprod.* 1996 May;11: 1023-9.
16. Seo JT, Park YS, Lee JS. Successful testicular sperm extraction in Korean Klinefelter syndrome. *Urology.* 2004 Dec;64: 1208-11.
17. Koga M, Tsujimura A, Takeyama M et al. Clinical comparison of successful and failed microdissection testicular sperm extraction in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome. *Urology.* 2007 Aug;70: 341-5.
18. Westlander G, Ekerhovd E, Granberg S, Hanson L, Hanson C, Bergh C. Testicular ultrasonography and extended chromosome analysis in men with nonmosaic Klinefelter syndrome: a prospective study of possible predictive factors for successful sperm recovery. *Fertil Steril.* 2001 Jun;75: 1102-5.
19. Madgar I, Dor J, Weissenberg R, Raviv G, Menashe Y, Levron J. Prognostic value of the clinical and laboratory evaluation in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome who are receiving assisted reproductive therapy. *Fertil Steril.* 2002 Jun;77: 1167-9.
20. Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL, Goldstein M, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Success of testicular sperm extraction [corrected] and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Nov;90: 6263-7.
21. Vernaeve V, Staessen C, Verheyen G, Van Steirteghem A, Devroey P, Tournaye H. Can biological or clinical parameters predict testicular sperm recovery in 47,XXY Klinefelter's syndrome patients? *Hum Reprod.* 2004 May;19: 1135-9.