İNTRAUTERİN İNSEMİNASYON İÇİN SPERM HAZIRLAMA TEKNİĞİNDE PENTOKSİFİLİNİN ETKİSİ

EFFECT OF PENTOXIFYLLINE IN SPERM PREPARATION FOR INTRAUTERINE INSEMINATION

KADIOĞLU, T.C., ZİYLAN, O., ÇAYAN, S., ÖZCAN, F., NANE, İ., TELLALOĞLU, S.

ÖZET

İleri yardımlı üreme teknikleri öncesi bir çok uygun çifte denenen intrauterin inseminasyon yönteminin başarısında sperm hazırlama tekniklerinin önemli yer tuttuğu bilinmektedir. Kullanılan medyalar, separasyon teknikleri ve stimulasyon yöntemleri ile birlikte uygulayıcının tekniği de sonuç üzerinde etkili olmaktadır. Pentoksifilinin fosfodiesterazı inhibe edip hücre içi cAMP'yi yükselterek endojen ATP kullanımını kolaylaştırdığı ve sperm motilitesini arttırdığı kabul edilmektedir.

Bu çalışmada intrauterin amaçlı sperm hazırlamada, separasyon öncesi petoksifilin kullanımının toplam hareketli sperm sayısı ve motilitesine olan etkisi araştırılmıştır.

W.H.O. kriterlerine uygun olarak alınan 20 semen örneği eşit miktarlarda petoksifilin içeren ve içermeyen iki ayrı tüpe ayrılmış ve çeşitli işlemlerden geçirilerek toplam ileri hareketli sperm sayımı (a+b) yapılmıştır. Çalışma sonunda tüm tüplerde yapılan sayım ve hareketlilik analizlerinde 20 örneğin 18'inde, A işaretli petoksifilin kullanılan örneklerde, B işaretli pentoksifilin kullanılmayanlara göre daha yüksek sayıda ileri motil sperm saptanmıştır.

Sonuçlarımız pentoksifilin oligoastenospermiklerde inseminasyon için hazırlanan materyalde hızlı ve ileri hareketli sperm sayılarını önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir.

SUMMARY

Intrauterine insemination is frequently applied prior to in vitro fertilization techniques due to its cost-effectiveness in suitable male factor cases. The mediums, stimulants and processing techniques effect the outcome as well as the skills of the technician. The study was performed on 20 oligoasthenospermic samples that were seperated after homogenisation and were processed with or without pentoxifylline. The results revealed that in 18 out of 20 samples the final motile count and motility were better in the pentoxifylline treated group.

ANAHTAR KELİMELER: Sperm hazırlama teknikleri, pentoksifilin

KEY WORDS: Sperm processing, pentoxifylline

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı

GİRİŞ

Evli çiftlerin yaklaşık % 15'i çocuk sahibi olmada güçlük nedeni ile tıbbi yardım için başvurmaktadır (1). İleri yardımlı üreme teknikleri öncesi birçok uygun çifte denenen intrauterin inseminasyon yönteminin başarısında sperm hazırlama tekniklerinin önemli yer tuttuğu bilinmektedir. Semen hazırlama işlemi sonucu elde edilen ileri hareketli sperm sayısı başarıyı etkileyen en önemli kriterlerden biridir. Kullanılan medyalar, separasyon teknikleri ve stimulasyon yöntemleri ile birlikte uygulayıcının tekniği de sonuç üzerinde etkili olmaktadır. Stimulasyon için en çok kullanılan maddelerden biri olan pentoksifilinin etkisi halen tartışmalıdır (2).

Pentoksifilin metilksantin grubundan bir fosfodiesteraz inhibitörüdür. Pentoksifilinin, fosfodiesterazı inhibe edip, hücre içi siklik adenozin monofosfatı (cAMP) yükselterek endojen adenozin trifosfat (ATP) kullanımını kolaylaştırdığı ve sperm teknikleri öncesinde kullanımı ile ayrıştırılacak motil sperm sayısında artış sağlanabileceği gibi separasyon sonrası elde edilen popülasyona uygulandığında kompüterize analiz teknikleri ile ayrıntılı tanımlanabilen sperm hareket parametrelerinde de artış olduğu bilinmekle birlikte bunların in vivo ve in vitro fertilizasyon oranlarına etkileri tartışmalıdır (5,6).

Bu çalışmada intrauterin inseminasyon amaçlı sperm hazırlamada, separasyon öncesi pentoksifilin kullanımının elde edilen toplam hareketli sperm sayısı ve motilitesine olan etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOD

Semen örnekleri ortak özellikleri W.H.O. (1992) (7) kriterlerine göre oligoastenospermi (<20x10^6 spermatozoa/ml ve <% 50 ileri hızlı ve yavaş hareketli toplamı; a+b) olan 20 kişiden üç günlük cinsel perhiz sonrası mastürbasyon ile elde edilmiştir. Çalışmadaki tüm sayım ve motilite tesbit işlemlerinde Makler kamerası ve W.H.O. (1992) yöntem ve kriterleri kullanılmıştır. Tüm örneklerin 20 dakikada 26°C ısıda likefiye oldukları pipetten damlatma yöntemi ile tesbit edilmiş ve pipetleme ile örneklerin homojenizasyonu sağlanmıştır. Homojenizasyon sonrası miktar ölçümü en yakın milimetre hassasiyetinde derecelendirilmiş ölçüm tüpleri ile yapılarak her örnek eşit miktarlarda A ve B olarak 2 ayrı tüpe ayrılmıştır. A olarak işaretlenmiş her tüpten alınan 0.5 ml örnek eşit miktarda 3.6 mM pentoksifilin içeren modifiye Earle medya (EBSS+hepes+% 0.2 human serum albumin+antibiyotik) ile 24°C de 20 dakika inkübe edilmiştir. B olarak işaretli tüplere ise aynı işlem pentoks içermeyen aynı medya ile uygulanmıştır. Daha sonra bütün örnekler hazırlanmış olan 1 ml'lik % 47 ve % 90'lık "mini -discontinue Percoll" gradyanları üzerine konularak 300 g'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan pelletler aspire edilip medya ile yıkanarak her tüpten elde edilen toplam ileri hareketli sperm sayımı (a+b) yapılmıştır.

İstatistiki değerlendirme, Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanılarak hesaplanmıştır.

SONUÇ

Çalışma sonunda tüm tüplerde yapılan sperm sayım ve hareketlilik analizlerinde 20 örneğin 18'inde, A işaretli pentoksifilin kullanılan örneklerde B işaretli pentoks kullanılmayanlara göre, istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek sayıda ileri motil sperm saptanmıştır (z=-2.57, p= 0.01) (Tablo 1). Aynı zamanda bu 18 örneğin hepsinde ileri hızlı hareketli ve b: ileri yavaş hareketli olarak değerlendirilmektedir).

Diğer iki örnekte ise a tipi hareketlilikte belirgin azalma ile birlikte elde edilen toplam spermatozoa sayısında da önemli düşüş görülmüştür.

Yine aynı şekilde 20 örneğin aynı 18'inde, pentoksifilin kullanılan örneklerde sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı yükselme görülmüştür (z=-3.09, p=0.001).

TABLO 1: Pentoksifilin kullanılan ve kullanılmayan gruplarda toplam hareketli sperm ve sayısı

	Pentoksifilin kullanılmayan grup		Pentoksifilin kullanılan grup	
	Hareketli sperm toplamı (%)	Toplam sperm sayısı (milyon)	Hareketli sperm toplamı (%)	Toplam sperm sayısı (milyon)
1.	55	4.670	86	8.210
2.	60	3.720	92	4.680
3.	45	11.210	70	16.887
4.	60	7.900	32	2.530
5.	65	5.970	94	12.620
6.	30	1.208	54	3.175
7.	58	4.220	82	7.440
8.	24	0.860	42	2.160
9.	53	0.450	78	1.980
10.	79	10.630	94	17.600
11.	53	2.120	67	4.080
12.	47	0.760	54	3.410
13.	48	1.370	12	0.040
14.	76	6.310	88	12.940
15.	80	7.420	94	8.370
16.	66	2.470	72	3.530
17.	71	4.110	88	5.890
18.	73	2.600	92	4.580
19.	64	1.440	68	1.910
20.	80	5.810	90	9.340

n: 20

Her iki gruptaki hareketli sperm toplamı farkı z=-2.57, p=0.01
Her iki gruptaki toplam sperm sayısı farkı: z= -3.09, p=0.001

TARTIŞMA

Semendeki motil spermatozoaların uygun pentoksifilin konsantrasyonunda hiperaktiflik benzeri bir hareketliliğe ulaştıkları , ilerleme hızının, flagellum hareketliliğin ve lateral baş deplasmanının arttığı bilinmektedir (8,9). Hız artışının spermin yumurtaya penetrasyon kapasitesini arttırdığı saptanmıştır (10). Ayrıca akrozom reaksiyonu yetmezliği saptanan vakalarda da pentoksifilin uygulamasının fertilizasyon oranlarını arttırdığı bildirilmiştir (11).

Çoğu araştırmalarda çalışmamızda kullanılan pentoksifilin konsantrasyonu kullanılmışsa da 5-6 mM gibi daha yüksek konsantrasyonlarda olumlu etkinin optimalize olacağı da bildirilmiştir (5,12). Çalışmamızdaki iki örnekte görüldüğü gibi bazı kişilerin spermlerinin pentoksifiline toksisite benzeri reaksiyon verebilecekleri de bilinerek klinik uygulama öncesi deneme yapılarak mümkün ise uygun konsantrasyonun saptanması gerekir (6,8).

İntrauterin inseminasyon için konvansiyonel yöntemler ile sperm hazırlanması bilhassa ağır erkek faktörü vakalarında yetersiz sonuçlar verebilir. Bilhassa ağır morfolojik bozukluklarda ve motilite düşüklüklerine inseminasyon için elde edilecek ileri hareketli sperm sayısının artışı fertilite oranlarını arttırmaktadır (13). Sonuçlarımız pentoksifilinin oligoastenospermiklerde inseminasyon için hazırlanan materyalde hızlı ve ileri hareketli sperm sayılarını önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir.

KAYNAKLAR

1- **Shakkebaek, N.E., Giwercman, A., Kretser, D.:** Pathogenesis and management of infertility. Lancet,3 4 343: 1473, 1994.

2- **Yovich, J.M., Edirisinghe, W.R., Cummins, J.W., Yovich, J.L.:** Influence of pentoxifylline in severe factor male infertility. Fertil . Steril. 53:715, 1990.

3- **Sikka, S.C., Hellstrom, W.J.G.:** The application of pentoxifylline in the stimulation of sperm motion in man undergoing electroejaculation. J. Androl. 12: 165, 1991.

4- **Garbers, D.L, Lust, W.D., First, N.L., Lardy, H.A.:** Effect of phosphodiesterase inhibitors and cyclic nucleotides on sperm respiration and motility. Biochemistry, 10:1825, 1971.

5- **Paul, M., Sumpter, J.P., Lindsay, K.S.:** Action of pentoxifylline directly on semen Human Reprod. 10:354, 1995.

6- **Tournaye, H., Janssens, R., Verheyen, G., Camus, M., Devroey, P., Steirtghem, A.V.:** An indiscriminate use of pentoxifylline does not improve in-vitro fertilization in poor fertilizers. Human Reprod. 9: 1289, 1994.

7- **WHO.** Laboratory manual for the examination of human semen and spermcervical mucus interaction. New York, Cambridge University Press, 1992.

8- **Tesarik, J., Mendosa, C., Carreras, A.:** Effects of phosphodiesterase inhibitors caffeine and pentoxifylline on spontaneous and stimulus-induced acrosome reactions in human sperm. Fertil. Steril. 58: 1185, 1992.

9- **Lewis, S.E.M., Moohan, J.M., Thompson, W.:** Effects of pentoxifylline on human sperm motility in normospermic individuals using computer-assisted analysis. Fertil. Steril. 59: 418, 1993.

10- **Holt, W.V., Moore, H.D.M., Hillier, S.G.:** Computer assisted measurements of sperm swimming speed in human semen: correlation of results with in vitro fertilization assays. Fertil. Steril. 44: 112, 1985.

11- **Tesarik, J., Mendoza, C.:** Sperm treatment with pentoxifylline improves the fertilizing ability in patients with acrosome reaction insufficiency. Fertil. Steril. 60: 141, 1993.

12- **Fuse , H., Sakamoto, M., Ohta, S., Katayama, T.:** Effect of pentoxifylline on sperm motion. Arch. Androl. 31: 9, 1993.

13- **Oehninger, S., Acosta, A.A., Morshedi, M., Veek, L., Swanson, R.J., Simmons, K., Rosenwaks, Z.:** Corrective measures and pregnancy outcome in in vitro fertilization in patients with severe sperm morphology abnormalities. Fertil Steril. 50: 283, 1988.