

ИНТРАЦИТОПЛАЗМНО СПЕРМАЛНО ИНЖЕКТИРАНЕ (ICSI) - ПРЕДИМСТВА И НЕДОСТАТЪЦИ

Гергана Ингилизова^{1,2}, Иван Костов¹, Иван Лазаров^{1,2}, Даниела Велкова^{1,2}

¹Първа специализирана акушеро-гинекологична болница за активно лечение „Св. София“ и ²Многопрофилна болница за активно лечение „Вита“, София

INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION (ICSI) - ADVANTAGES AND DISADVANTAGES

Gergana Ingilizova^{1,2}, Ivan Kostov¹, Ivan Lazarov^{1,2}, Daniela Velkova^{1,2}

¹St. Sofia First Specialized Obstetric and Gynecologic Hospital for Active Treatment of Sofia and ²Vita Multiprofile Hospital for Active Treatment of Sofia

РЕЗЮМЕ

През 1992 г. Palermo и съавт. (12) съобщават за първото бебе, заченато и родено в резултат на интрацитоплазмно спермално инжектиране (ICSI) в Белгия. От тогава до днес методът ICSI се е превърнал в популярна асистирана репродуктивна технология, доказана като ефективно средство за лечение на мъжкия инфертилитет. Много здрави деца с нормално физическо и умствено развитие са родени в резултат на тази процедура по целия свят. Поради особеностите на техниката и лошите характеристики на използваните сперматозоиди, все още съществуват съмнения относно сигурността на ICSI-процедурата. Според някои изследователи вродените малформации при децата, родени след ICSI, са по-често срещани в сравнение не само с общата популация, но и спрямо децата, родени след класическо *in vitro* оплождане (IVF). Мненията в литературата не са еднопосочни и се различават съществено по отношение на отделните изследователски центрове. В заключителния доклад на Practice Committee of the American Society of Reproductive Medicine се обобщава, че ICSI е ефективна и безопасна техника за лечение на мъжкия фактор за инфертилитета. Все пак тя повишава риска от предаване в поколението на изолирани генни дефекти, както поради характера на самата техника, така и поради по-честото носителство на подобни генни мутации в родителите. Целта на настоящия обзор е да разгледа и обсъди предимствата и недостатъците на техниката и да съсредоточи вниманието на клиницистите върху прецизирането на приложението ѝ, за да бъдат сведени до минимум евентуални компликации след настъпване на бременност.

Ключови думи: интрацитоплазмно спермално инжектиране, *in vitro* оплождане, аномалии, спонтанни аборти

ABSTRACT

The first baby conceived and born as a result of intracytoplasmic sperm injection (ICSI) was reported by Palermo et al. in 1992 in Belgium (12). Since then onwards, ICSI has become a popular fertilization technique proved to be a very efficient way in treating the male infertility. As a result of this procedure, many healthy children with normal physical and mental development have been born worldwide. However, because of the complexity of the technology and the poor characteristics of the spermatozoa used, concerns about the safety of ICSI still exist. According to some researchers, congenital malformations in infants born after ICSI occur more often than in naturally conceived children or even in conventional *in vitro* fertilization (IVF) conceived children. However, the literature reviewing the subject is far more contradictory and medical opinions differ significantly amongst the medical research centers. A conclusive report from the Practice Committee of the American Society of Reproductive Medicine states that ICSI is an effective and safe procedure for treatment of male infertility; however, it increases the risk of transmitting certain DNA mutations to the offspring. The reason is not only due to the procedure itself but also to the likelihood of carrying such gene mutations in parents. The aim of the present survey is to review and discuss the advantages and disadvantages of such a procedure and to focus clinicians' attention on refining its application in order to minimize possible complications during and after pregnancy.

Key words: intracytoplasmic sperm injection, *in vitro* fertilization, abnormalities, miscarriages

ВЪВЕДЕНИЕ

През 1992 г. Palermo и съавт. (12) съобщават за първото бебе, заченото и родено в резултат на интрацитоплазмено спермално инжектиране (ICSI) в Белгия. От тогава до днес методът ICSI се е превърнал в популярна асистирана репродуктивна технология (АРТ), доказана като ефикасно средство за лечение на мъжкия инфертилитет. Много здрави деца с нормално физическо и умствено развитие са родени в резултат на тази процедура по целия свят. ICSI е сравнително нова АРТ в сравнение със стандартното ин витро оплождане (IVF). Ключовата разлика между двата метода е в начина на инсеминиране на овоцитите. При IVF-процедурата аспирираните овоцити на жената се смесват в петрита заедно с хиляди селектирани подвижни сперматозоиди на партньора и се култивират за една нощ в инкубатор при 37°C и 5-6% CO₂. През това време би трябвало да се осъществят характерните биохимични взаимодействия между сперматозоидите и яйцеклетките и по естествен начин да се осъществи оплождането. ICSI-процедурата представлява субективно селектиране на един сперматозоид, улавянето му със специална микроигла и инжектирането му в цитоплазмата на яйцеклетката. По този начин, обаче, естественият отбор се оказва тотално елиминиран. Сперматозоидът бива подбиран на базата на неговите морфологични характеристики, което не винаги е гаранция за правилна генетична информация (2,3).

Приложение на ICSI-процедурата

С въвеждането на ICSI-процедурата става възможно лечението на редица форми на стерилитет, при които стандартното IVF не дава резултат. Прилага се основно при мъжки фактор на инфертилитет - ниска концентрация на сперматозоидите (oligozoospermia), лоша морфология (teratozoospermia) и намалена подвижност (asthenozoospermia). Тя се оказва единствено решение и при мъже с диагноза азооспермия - липса на сперматозоиди в еякулата. При тях сперматозоидите се извличат микрохирургично от епидидима или тестисите - тестикуларна спермална екстракция (TESE), микрохирургична биопсия на епидидима (MESA), перкутанна биопсия на епидидима (PESA) или перкутанна тестикуларна тънкоиглена аспирация (TESA) (15,20). Това е подходящ метод за лечение и в случаите на еректилна дисфункция или други сексуални проблеми при мъжа, при някои клинични състояния на мъжката полова система, при които сперматозо-

идите не успяват да преминат през уретрата, което би могло да се дължи на ретроградна еякулация, неуспешна обратна вазектомия и др.

Освен това ICSI се прилага и в някои случаи на стерилитет при жената, напр. проблеми в цервикалния мукус, водещи до затруднено преминаване на сперматозоидите през маточната шийка, наличието на антиспермални антители, които атакуват и убиват сперматозоидите, антитела срещу *zona pellucida*, които възпрепятстват пене-трацията и оплождането на яйцеклетката и др.

Успеваемост на ICSI-процедурата

Успеваемостта на процедурата е сходна с тази при IVF - около 30-40 % при коректно селектирани двойки. Реалният процент на успешна концепция зависи от множество фактори, които включват:

1. възрастта на жената - качеството на яйцеклетките се влошава с напредване на възрастта на жената и с това намаляват и шансовете за бременност;

2. причината за субфертилитета - колкото по-сложни и многобройни са причините за невъзможността за забременяване по нормален начин, толкова по-нисък е процентът на успеваемост чрез IVF;

3. броя на трансферираните ембриони - трябва да се намери правилният баланс между трансферирането на минимален брой качествени ембриони, което да сведе до минимум риска от усложнения по време на евентуална бременност и трансфера на максималния законово допустим брой ембриони, с цел повишаване на възможността за имплантация на поне един ембрион, в случай, че останалите не оцелят;

4. опита на специалистите в отделните клиники - съществуват разлики между процентите на успеваемост в зависимост от опита и степента на квалификация на специалистите в тази област.

РИСКОВЕ ПРИ ICSI-ПРОЦЕДУРАТА

Възможна трансмисия на генетични заболявания

Известно е, че в някои случаи мъжкят инфертилитет е свързан с хромозомни и генетични аномалии. Наблюдава се повишение на процента на тежките хромозомни аномалии като напр. балансираните транслокации при мъжете с oligozoospermia и asthenozoospermia (9,10,14). В Y-хромозомата на около 5-10% от тези мъже се наблюдава липса на малки участъци от ДНК. Това са т. нар. „Y микро-делеции“ (5). Съществуват и

други, а в бъдеще вероятно ще бъдат открити и нови специфични генетични нарушения, идентифицирани като причини за продукцията на дефектни сперматозоиди и някои форми на мъжкия инфертилитет. В някои случаи редица техники като напр. ICSI могат да доведат до трансмисия на генетичните проблеми, което може да предизвика инфертилитет в поколението от мъжки пол или други, все още неизвестни медицински проблеми при децата (4,11). В повечето случаи тези нарушения вероятно не биха се предали без намесата на ICSI - в частност, ако двойката не се сдобие с дете.

През 2006 г. FDA даде разрешение за употреба в ембриологичните лаборатории на специална система, позволяваща селекцията на най-зрелите и с най-висока оплодителна способност сперматозоиди. Принципът на тази методика се основава на действието на веществото хиалуронан, основна съставка на кумулусния слой на яйцеклетката. В специално петри се съдържат микроскопични капки хиалуронан под формата на хидрогел, разположени сред култивираща среда. След няколко часа най-зрелите сперматозоиди, поставени в тази среда, се насочват и концентрират към микрокапките от хиалуронан. Това позволява на ембриолозите да осъществят селекция на сперматозоидите за ICSI именно от тази конкретна субпопулация. Публикациите в световната литература недвусмислено сочат значително по-малък брой случаи на анеуплоидии и ДНК-мутации при деца, родени след подобна предварителна селекция. Тази методика е известна под името PICSI (6).

Малформации

Предполага се, че инжектирането на сперматозоид директно в яйцеклетката може да увреди сперматозоида и да предизвика увреждане на плода (16,18). Това все още не е доказано, тъй като ICSI е сравнително нова технология. Проучванията върху влиянието и бъдещите рискове от приложението ICSI тепърва предстоят.

Спонтанни аборти

Счита се, че рискът от спонтанен аборт при бременностите, настъпили след приложение на ICSI, е значително по-голям, тъй като тези бременности са резултат от инсеминиране на яйцеклетка със сперматозоид, който в друг случай не би бил способен да осъществи оплождането (1,17,19,21). И тази теория предстои да бъде доказана или отхвърлена в бъдеще. В допълнение към това, много автори отдават ключова роля на прогестероновата хормонална субституция в луте-

алната фаза, особено важна след ICSI-ET (18). В същия смисъл се обсъжда и ролята на GnRH-агонистите в лутеалната фаза като фактор за повишаване на процента на живородените деца след ICSI-процедура (7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ICSI-процедурата е революционна технология в асистираната репродукция, която е единствена възможност за постигане на бременност и раждане на дете за милиони двойки по цял свят. Съществуват противоречиви данни по отношение на рисковете от приложението на ICSI (8). Редица проучвания показват, че процентът на малформациите при деца, заченати в резултат на ICSI-процедура, не е по-голям (1,13), отколкото в случаите на стандартно IVF или при забременяване по естествен начин. Други автори съобщават за известно повишение на процента на аномалии в плода (4,16). Поради факта, че процедурата, макар и рутинно, се прилага от сравнително кратко време и изследванията в тази област все още предстоят, би следвало внимателно да се прецизират случаите на нейното приложение.

С цел минимизиране на риска от спонтанни аборти и предаване на генетични заболявания в поколението, което освен всички медицински последици има и тежко емоционално отражение върху пациентите, инсеминирането на яйцеклетките чрез ICSI би следвало да се прилага според стриктни критерии и то само в случаите, когато има категорично основание да се счита, че сперматозоидите не биха могли сами да оплодят яйцеклетката при стандартно IVF. Редно е пациентите да бъдат своевременно информирани както за предимствата, така и за недостатъците от ICSI и да бъдат насочвани към извършване на необходимите генетични изследвания, което би могло да се окаже ключова стъпка в преодоляването на голяма част от неуспехите след АРТ-процедура.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bahceci, M., U. Ulug. Does underlying infertility aetiology impact on first trimester miscarriage rate following ICSI? A preliminary report from 1244 singleton gestations.- *Hum. Reprod.*, **20**, 2005, No 3, 717-721.
2. Burrello, N., G. Arcidiacono, E. Vicari, et al. Morphologically normal spermatozoa of patients with secretory oligo-asthenoteratozoospermia have an increased aneuploidy rate.- *Hum. Reprod.*, **19**, 2004, No 10, 2298-2302.

3. Celik-Ozenci, C., A. Jakab, T. Kovacs, et al. Sperm selection for ICSI: shape properties do not predict the absence or presence of numerical chromosomal aberrations.- *Hum. Reprod.*, **19**, 2004, No 9, 2052-2059.
4. Feng, C., L. Q. Wang, M. Y. Dong, et al. Assisted reproductive technology may increase clinical mutation detection in male offspring.- *Fertil. Steril.*, **90**, 2008, No 1, 92-96.
5. Hellani, A., S. Al-Hassan, M. Iqbal et al. Y chromosome microdeletions in infertile men with idiopathic oligo- or azoospermia.- *J. Exp. Clin. Assist. Reprod.*, **3**, 2006, 1-6.
6. Hoekstra, D. New sperm selection technology for ART cleared by FDA. Horsham, PA, Biocoat, Inc., PRWeb, 2006 July 7. <http://www.prweb.com/releases/2006/07/prweb407895.htm>
7. Kyrrou, D., E. M. Kolibianakis, H. M. Fatemi, et al. Increased live birth rates with GnRH agonist addition for luteal support in ICSI/IVF cycles: A systematic review and meta-analysis.- *Hum. Reprod. Update*, **17**, 2011, No 6, 734-740.
8. Ludwig, M., A. Katalinic. Malformation rate in fetuses and children conceived after ICSI: results of a prospective cohort study.- *Reprod. Biomed. Online*, **5**, 2002, No 2, 171-178.
9. Martin, R., A. Rademaker, C. Greene, et al. A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate, and severe oligozoospermia.- *Biol. Reprod.*, **69**, 2003, No 2, 535-539.
10. Mateize, I., G. Verheyen, E. Van Assche, et al. FISH analysis of chromosome X, Y and 18 abnormalities in testicular sperm from azoospermic patients.- *Hum. Reprod.*, **17**, 2002, No 9, 2249-2257.
11. Matsumoto, Y., M. Satoh, Y. Akamatsu, et al. Does ICSI increase the incidence of chromosomal aberration in embryos?- *Fertil. Steril.*, **96**, 2011, No 3, p. S268.
12. Palermo, G., H. Joris, P. Devroey, et al. Pregnancies after intracytoplasmic sperm injection of a single spermatozoon into an oocyte.- *Lancet*, **340**, 1992, No 8810, 17-18.
13. Palermo, G., Q. Neri, J. Hariprasad, et al. ICSI and its outcome.- *Semin. Reprod. Med.*, **18**, 2000, No 2, 161-170.
14. Reijo, R., R. K. Alagappan, D. C. Page, et al. Severe oligozoospermia resulting from deletions of azoospermia factor gene on Y chromosome.- *Lancet*, **347**, 1996, No 9011, 1290-1293.
15. Rodrigo, L., C. Rubio, E. Mateu, et al. Analysis of chromosomal abnormalities in testicular and epididymal spermatozoa from azoospermic ICSI patients by fluorescence in-situ hybridization.- *Hum. Reprod.*, **19**, 2004, No 1, 118-123.
16. Steirteghem, V., M. Bonduelle, P. Devroey, et al. Follow-up of children born after ICSI.- *Hum. Reprod. Update*, **8**, 2002, No 2, 111-116.
17. Ulug, U., E. A. Jozwiak, A. Mesut, et al. Survival rates during the first trimester of multiple gestations achieved by ICSI: a report of 1448 consecutive multiples.- *Hum. Reprod.*, **19**, 2004, No 2, 360-364.
18. Van der Linden, M., K. Buckingham, C. Farquhar, et al. Luteal phase support in assisted reproduction cycle.- *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2011 Oct 5, No 10, CD009154. doi: 10.1002/14651858.CD009154.pub2
19. Wang, G.-h., Y. H. Guo, Y. P. Sun, et al. Impact of sperm malformation rate on ICSI clinical outcomes.- *Reprod. Contracept.*, 2011, No 4, 241-245.
20. Wang, J. X., H. X. Sun, Y. L. Hu, et al. Outcome of intracytoplasmic injection of epididymal and testicular sperm obtained from azoospermic patients.- *Zhonghua Nan Ke Xue*, **10**, 2004, No 10, 751-754 (Chinese).
21. Wisanto, A., M. Bonduelle, M. Camus, et al. Obstetric outcome of 904 pregnancies after intracytoplasmic sperm injection.- *Hum. Reprod.*, **11**, 1996, No 4, 121-130.

Адрес за кореспонденция:

Гергана Ингилизова
 ПСАГБАЛ „Св. София“
 гр. София 1330
 ул. „Михалаки Ташев“ № 2
 e-mail: ingilizova@mail.bg
 тел.: 0887204480