

Non-obstruktiivisen atsoospermian vaikutus alkiolaatuun

Sanni Pinomäki

Pro gradu -tutkielma

Turun yliopisto

Biologian laitos

2.12.2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Turun yliopisto

BIOLOGIAN LAITOS

Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta

SANNI PINOMÄKI: Non-obstruktiivisen atsoospermian vaikutus alkiolaatuun

Pro gradu- tutkielma, 46 s.

Eläinfysiologia

Joulukuu 2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Tahattomasta lapsettomuudesta kärsii jossain vaiheessa elämänsä noin 15 % hedelmällisessä iässä olevista pareista. Arviolta 30–40 % lapsettomuutta selittävistä syistä johtuu pelkästään miehestä. Vaikeimmassa miehen hedelmättömyydessä, non-obstruktiivisessa atsoospermiassa (NOA), potilaan siittiötuotanto on vaikeasti häiriintynyt ja se saattaa olla hyvin paikallista. NOA-potilaalta ei yleensä löydetä siittiöitä siemennesteestä. Osalta NOA-potilaita siittiöitä on kuitenkin mahdollista löytää kiveskudoksesta mikrodissektioleikkauksen (MD-TESE) avulla. NOA-potilaiden lapsettomuutta hoidetaan Suomessa pääosin Turun yliopistollisen keskussairaalan (Tyks) lisääntymislääketieteen yksikössä.

Tässä työssä tutkittiin Tyksin NOA-potilaiden siittiöillä aikaansaatuun alkioiden alkiolaatua. Verrokkiryhmänä käytettiin alkioita, jotka oli saatu aikaan obstruktiivista atsoospermiaa (OA) sairastavilta miehiltä, neulabiopsialla (TESA), talteen otetuilla siittiöillä. OA-miesten spermatogeneesi on normaali, mutta siittiöiden pääsy siemennesteeseen on estynyt. NOA:n taustalla on useita eri diagnooseja. Tutkimuksessa selvitettiin, vaikuttaako NOA-miehen taustadiagnoosi munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun. Lisäksi tutkittiin, vaikuttaako MD-TESE -menetelmällä saatujen siittiöiden määrä alkiolaatuun. Vaikeimmissa NOA-tapauksissa saadaan talteen vain yksittäisiä siittiöitä, eikä käytettäviä siittiöitä päästä mikroinjektiossa valitsemaan morfologian perusteella.

Vaikka NOA-potilaiden spermatogeneesi on vaikeasti häiriintynyt, munasolujen hedelmöittäminen ja alkiolaatu eivät eronneet toisistaan NOA-potilaiden ja OA-potilaiden siittiöillä tehtyjen hoitojen välillä. Myöskään NOA-potilaiden eri diagnooseilla ei ollut vaikutusta munasolujen hedelmöittymiseen tai alkiolaatuun. Koska NOA-potilaiden spermatogeneesi on vaikeasti häiriintynyt, löydetään MD-TESE:n avulla usein vain yksittäisiä siittiöitä. Näillä tehdyissä, vaativissa ICSI-hoidoissa, munasolujen hedelmöittäminen ja alkiolaatu oli tilastollisesti huonompi kuin niissä hoidoissa, joissa siittiöitä oli niin paljon, että niistä voitiin valita morfologialtaan parhaat siittiöt mikrohedelmöitykseen.

Tieto NOA-potilaan siittiöillä aikaansaatuun alkioiden laatuun vaikuttavista syistä, kuten taustadiagnoosista ja käytettävissä olevien siittiöiden määrästä, auttaa ennustamaan hoidon onnistumisen todennäköisyyttä. Tämä voi auttaa päättämään, hoidetaanko pariskunnan lapsettomuutta omilla vai luovutetuilla sukusoluilla. Tämän tutkimuksen perusteella millekään yksittäiselle NOA-potilasryhmälle ei ole syytä suositella ensisijaisesti lahjasiittiöiden käyttöä, jos omia siittiöitä löydetään MD-TESE:n avulla.

AVAINSANAT: alkiolaatu, Non-obstruktiivinen atsoospermia, Obstruktiivinen atsoospermia, Klinefelterin syndrooma (47, XXY), Y-kromosomin mikroleetio, Idiopaattinen atsoospermia, miehen vaikea hedelmättömyys, MD-TESE

Sisällys

1. JOHDANTO.....	1
1.1 Miehen hedelmällisyyden kehittyminen.....	2
1.1.1 Kivesten tärkeimmät tehtävät; spermatogeneesi ja testosteronin erityys	2
1.2 Hedelmällisyyden tutkiminen ja häiriöt siittiötuotannossa.....	3
1.2.1 Siemennesteanalyysi.....	3
1.2.2 Atsoospermia	4
1.2.2.1 Obstruktiivinen- ja Non-obstruktiivinen atsoospermia.....	5
1.3 Atsoospermian syyn selvittäminen ja hoito	7
1.3.1 Kivesbiopsiamenetelmät	8
1.3.2 MD-TESE-ICSI	9
1.4 Alkioiden luokittelu ja valinta	10
1.5 Kiveskudoksesta löydettyjen siittiöiden käyttö hedelmöityshoidoissa	12
1.5.1 Munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu OA- ja NOA-potilaiden hoidoissa ..	14
1.6 Tutkimuksen tavoitteet	15
2. AINEISTO JA MENETELMÄT	17
2.1 Tutkimuksessa käytettävä aineisto	17
2.2 Siittiöiden keräysmenetelmät	17
2.2.1 Kiveksen mikrodissektioleikkaus, MD-TESE	17
2.2.2 Kiveksen neulabiopsia, TESA	18
2.3 MD-TESE- ja TESA-ICSI ja alkioviljely.....	18
2.4 Alkioiden luokittelu tutkimusta varten	20
2.5 Tilastoanalyysit.....	21
3. TULOKSET	22
3.1 Alkiolaatu ja hedelmöittyminen NOA- ja OA-potilaiden ICSI-hoidoissa	22
3.1.1 Naisten taustatekijät NOA- ja OA-ryhmissä	22
3.1.2 Alkiolaadun ja munasolujen hedelmöittymisen vertailu NOA- ja OA-potilaiden ICSI-hoidoissa	22
3.1.3 Synnytykseen johtaneiden alkioiden laatu.....	24
3.2 Alkiolaadun vertailu NOA-diagnoosiryhmien välillä	24
3.2.1 Diagnoosiryhmien taustamuuttajat.....	24
3.2.2 Munasolujen hedelmöittymisen ja alkiolaadun vertailu diagnoosiryhmien välillä..	25
3.2.3 Synnytykseen johtaneiden alkioiden laatu NOA-diagnoosiryhmien välillä.....	27

3.3 NOA-potilaan ICSI-hoidon vaativuuden vaikutus munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun.....	27
3.3.1 Vaativien ja helppojen ICSI-hoitojen taustatekijät.....	27
3.3.2 Munasolujen hedelmöittymisen ja alkiolaadun vertailu helppojen ja vaativien MD-TESE-ICSI -hoitojen välillä.....	28
3.3.3 Synnytykseen johtaneiden alkioiden laatu vaativissa ja helppoissa MD-TESE-ICSI -hoidoissa.....	29
4. TULOSTEN TARKASTELU	30
4.1 Alkiolaatu NOA-potilaiden ICSI-hoidoissa	30
4.2 NOA-potilaan taustadiagnoosin vaikutus alkiolaatuun	31
4.3 Siittiöiden valinnan merkitys mikrohedelmöityksessä	33
4.4 Johtopäätökset ja tulevaisuus miehen vaikean lapsettomuuden hoidossa	34
 KIITOKSET	 36
LÄHTEET	37

LYHENTEET

AMH, anti-Müllerian hormoni

AZF, Y-kromosomin atsoospermiatekijä

FSH, follikkelia stimuloiva hormoni

GnRH, Gonadotropiinia vapauttava hormoni

hCG, istukkagonadotropiini

ICSI, intracytoplasmic sperm injection, mikrohedelmöitys

LH, Luteinisoiva hormoni

MA, Maturation arrest

MD-TESE, mikro-TESE, Kiveskudoksen mikrodissektioleikkaus

NOA, Non-obstruktiivinen atsoospermia

OA, Obstruktiivinen atsoospermia

SCO, Sertoli cell-only

TESA, kivesbiopsia

Tyks, Turun yliopistollinen keskussairaala

WHO, World Health Organization

1. JOHDANTO

Tahattomasta lapsettomuudesta kärsii jossain vaiheessa elämäänsä noin 15 % hedelmällisessä iässä olevista pareista. Arviolta 30–40 % lapsettomuutta selittävistä syistä johtuu pelkästään miehestä (Sharlip ym. 2002). Miesten yleisimmät syyt lapsettomuuteen ovat erilaiset spermatogeneesin eli siittiötuotannon häiriöt (Tiitinen & Savolainen-Peltonen 2019). Vaikeimmassa miehen hedelmättömyydessä, non-obstruktiivisessa atsoospermiassa (NOA), potilaiden siittiötuotanto on vaikeasti häiriintynyt ja siittiötuotanto kiveksessä saattaa olla hyvin paikallista. Näiltä potilailta ei yleensä löydetä siittiöitä siemennesteestä. NOA-potilailta siittiöitä on kuitenkin mahdollista löytää kiveskudoksesta mikrodissektiroleikkauksen (MD-TESE) avulla. MD-TESE-menetelmällä siittiöt kerätään suoraan kiveskudoksesta ja löydetty siittiöt pakastetaan myöhempää käyttöä varten tai puolison munasolujen keräys ja hedelmöitys ajoitetaan MD-TESE-päivään. Potilaan puolisolta kerättävät munasolut hedelmöitetään mikroinjektiolla (ICSI) viemällä yksi siittiö munasoluun. Alkionkehitystä seurataan tietyissä aikapisteissä IVF-laboratoriossa. Yksi alkio siirretään kohtuun ja loput hyvälaatuiset alkiot pakastetaan myöhempää käyttöä varten. Ennen mikrohedelmöityksen ja MD-TESE-kiveskirurgian kehittämistä NOA-miehillä ei ollut mahdollisuutta biologiseen lapseen. MD-TESE-siittiöillä tehdyt mikroinjektiohoidot on todettu tehokkaaksi tavaksi hoitaa miehen vaikeaa lapsettomuutta ja näistä hoidoista on syntynyt terveitä lapsia (Klami ym. 2024). Vaikka MD-TESE-siittiöitä on käytetty hedelmöityshoidoissa jo pitkään, on vähän tietoa siitä, miten NOA:an johtaneet taustatekijät vaikuttavat siittiöihin ja niillä aikaan saatujen alkioiden laatuun.

NOA-potilaiden lapsettomuutta hoidetaan Suomessa pääosin Turun yliopistollisen keskussairaalan (Tyks) lisääntymislääketieteen yksikössä. Tämä työ on retrospektiivinen tutkimus Tyksin NOA-potilaiden siittiöillä aikaansaatuun alkioiden alkiolaadusta. Verrokkiryhmänä käytetään alkioita, jotka on saatu aikaan obstruktiivista atsoospermiaa (OA) sairastavilta miehiltä neulabiopsialla (TESA) talteen otetuilla siittiöillä. OA-miesten spermatogeneesi on normaali, mutta siittiöiden pääsy siemennesteeseen on estynyt. NOA:n taustalla on useita eri diagnooseja. Tutkimuksessa selvitetään, vaikuttaako NOA-miehen taustadiagnoosi munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun. Tutkimuksen tavoitteena on myös selvittää, vaikuttaako MD-TESE-menetelmällä saatujen siittiöiden määrä alkiolaatuun, sillä vaikeimmissa NOA-tapauksissa saadaan talteen vain yksittäisiä siittiöitä, eikä käytettäviä siittiöitä päästä mikroinjektiossa valitsemaan morfologian perusteella.

1.1 Miehen hedelmällisyyden kehittyminen

Miehen hedelmällisyyden kehittyminen alkaa jo sikiökaudella sukupuolen erilaistumisella. Geneettisillä miehillä (46, XY) Y-kromosomin SRY-geeni saa aikaan miehen sukurauhasten eli kivesten kehittymisen ja testosteronia erittävien Leydigin solujen erilaistumisen. Testosteroni stimuloi miehen sukupuolielinten kehitystä. Sikiön kives erittää myös anti-Müllerian hormonia (AMH), joka aiheuttaa Müller-tiehyiden regression ja estää siten kohtua ja munanjohtimia kehittymästä.

Sukupuolirauhasten toimintaa ohjaa hypotalamus-aivolisäke -akseli. Hypotalamuksen erittämän gonadotropiinia vapauttavan hormonin (GnRH) sekä aivolisäkkeen etulohkon hormonien, gonadotropiinien; follikkelia stimuloivan hormonin (FSH) ja luteinisoivan hormonin (LH) erittyminen alkaa jo sikiöaikana, mutta GnRH-, FSH- ja LH-tasot pysyvät alhaisina murrosikään asti. Murrosiässä GnRH:n pulssittainen erittyminen saa aikaan FSH:n ja LH:n erittymisen aivolisäkkeen etulohkossa sekä aivolisäkkeen etulohkon GnRH-reseptorien määrän lisääntymisen. FSH:n ja LH:n erityys stimuloi kiveksien testosteronin eritystä. GnRH:n pulssittainen erityys on välttämätöntä normaaleille lisääntymistoiminnoille. FSH stimuloi kiveksissä siittiötuotantoa eli spermatogeneesiä sekä Sertolin solujen toimintaa. LH stimuloi kivesten Leydigin soluja syntetisoimaan testosteronia. Testosteroni erittyy Leydigin soluista siementiehyissä oleviin Sertolin soluihin, joissa se vahvistaa FSH:n spermatogeenistä toimintaa. Kiveksen paikallinen testosteronipitoisuus on välttämätöntä normaalille siittiötuotannolle. Miehen hypotalamus-aivolisäke-akselia ohjaa negatiivinen palautesäätely. Testosteroni estää hypotalamuksen etulohkon GnRH:n eritystä sekä aivolisäkkeen LH:n eritystä. Sertolin solujen erittämä inhibiini toimii aivolisäkkeen FSH-erityksen estäjänä.

1.1.1 Kivesten tärkeimmät tehtävät; spermatogeneesi ja testosteronin erityys.

Kivekset sijaitsevat kivespussissa, hieman erillään muusta kehosta, jolloin niiden lämpötila on 1–2 °C ruumiinlämpötilan alapuolella. Siittiöiden tuotanto on mahdollista vain ruumiinlämpöä alemmassa lämpötilassa, minkä takia korjaamaton piilokiveksisyys aiheuttaa hedelmättömyyden. 80 % kiveksestä koostuu tubulusmaisista siementiehyistä. Spermatogeneesi eli siittiötuotanto alkaa siementiehyiden itusoluista, jotka ovat kosketuksissa Sertolin soluihin. Sertolin solut tukevat kehittyviä siittiöitä tarjoamalla niille ravinteita sekä toimivat viestinvälittäjäsoluina välikudoksen ja kehittyvien siittiöiden välillä. Lisäksi Sertolin solut luovat esteen kivesten ja verenkierron välille (veri-kiveseste) sekä erittävät androgeenia sitovia proteiineja siementiehyisiin, mikä auttaa pitämään kiveksen paikallista testosteronipitoisuutta korkealla. Loput 20 %

aikuisen kiveksestä on sidekudosta, jossa on Leydigin soluja. Leydigin solujen tehtävänä on testosteronin synteesi ja erityis. Sidekudoksessa sijaitsee myös kiveksen veri- ja imusuonisto, joiden välityksellä tapahtuu kiveksen endokriininen, parakriininen ja autokriininen säätely. Testosteronilla on sekä paikallisia (parakriinisiä) vaikutuksia, jotka tukevat spermatogeneesiä kiveksen Sertolin soluissa, että endokriinisia vaikutuksia muihin kohde-elimiin.

Siementiehyiden epiteelissä olevien itusolujen erilaistuminen siittiöiksi kestää noin 10 viikkoa. Varhaisimmat spermatogoniot sijaitsevat siemenepiteelin laidalla ja ne jakautuvat mitoottisesti primaarisiksi spermatosyyteiksi. Kun primaarinen spermatosyytti saavuttaa preleptoteenivaiheen, alkaa meioottinen jakautuminen. Meioosissa on kaksi solunjakautumista, vähennysjakautuminen ja tasausjakautuminen. Ennen meioosin ensimmäistä jakautumista, eli vähennysjakautumista, tapahtuvat kromosomien pariutuminen ja tekijäinvaihdot, minkä jälkeen primaariset spermatosyytit jakautuvat haploideiksi sekundaarisiksi spermatosyyteiksi. Meioosin toisessa jakautumisessa sekundaariset spermatosyytit jakautuvat kerran, jolloin syntyy spermatidejä eli esisiittiöitä. Spermatidien kehitystä siittiöiksi kutsutaan spermiogeneesiksi. Siinä tuma ja sytoplasma muokkautuvat, kromatiini pakkautuu tiiviisti ja siittiön pää muodostuu. Lisäksi siittiölle muodostuu häntä, joka mahdollistaa liikkumisen. Kypsät siittiöt irtoavat siementiehyistä ja kulkeutuvat lisäkivekseen, joka on siittiöiden ensisijainen varastointipaikka. Matkalla lisäkivekseen siittiöt kypsyvät biokemiallisesti ja niiden ympärille muodostuu glykoproteiinivaippa. Siittiöt pysyvät elinkelpoisina lisäkiveksessä useita kuukausia.

Siittiöitä tuotetaan normaalisti aikuisen miehen kiveksissä noin 150 miljoonaa päivässä. Siittiö jaetaan morfologisesti päähän, keskikappaleeseen sekä häntään. Kromatiini on pakkautunut tiiviisti siittiön päähän ja pään ulkopuolella on akrosomihuppu, jossa on proteolyttisiä entsyymejä. Siittiön kaulaosassa on sentriolien muodostama kappale, johon mikrotubulukset ovat kiinnittyneet. Siittiön keskikappale sisältää mitokondrioita, joiden tuottamalla energialla häntä liikkuu.

1.2 Hedelmällisyyden tutkiminen ja häiriöt siittiöntuotannossa

1.2.1 Siemennesteanalyysi

Miehen hedelmällisyyden tutkiminen aloitetaan siemennesteanalyysillä. Siemennesteen laatu määritetään siittiöiden lukumäärän, liikkuvuuden ja siittiöiden morfologian mukaan. WHO (World Health Organization) on julkaissut standardoidun menetelmän siemennesteparametrien arviointiin, mikä sisältää viitearvot normaalille hedelmällisyydelle (Björndahl & Kirkman

Brown 2022). Siittiöiden kokonaismäärän tulisi olla ≥ 39 milj./ejakulaatti. Siittiötiheyden pientyessä alle 30–40 milj./ml alkaa hedelmällisyys laskea, vaikkakin täydellinen hedelmättömyys ilmenee vasta, kun siittiöitä on alle 5 milj./ml (Bonde ym. 1998). Saavuttaakseen normaalin hedelmöityskyvyn siittiön morfologian (pää, kaula ja häntä) tulisi olla normaali. Siittiöiden liikkeen normaaliarvona pidetään ≥ 42 % kokonaismäärästä ja eteenpäin liikkuvia siittiöitä tulisi olla vähintään 30 % kaikista ejakulaatin siittiöistä. Liikkumattomat siittiöt eivät yleensä ole hedelmöityskykyisiä. Siittiöiden puuttumista kahteen kertaan otetusta siemennesteestä kutsutaan atsoospermiaksi (Taulukko 1).

Taulukko 1. Siemennesteen normaaliarvot (WHO 2022) ja epänormaalisiemenneste

Ejakulaatin tilavuus (ml)	≥ 1.4
Siittiötiheys (milj./ml)	≥ 15
Siittiöiden kokonaismäärä (milj./ejakulaatti)	≥ 39
Liikkuvuus (%)	≥ 42
Progressiivinen liikkuvuus (%)	≥ 30
Normaalimuotoiset siittiöt (%)	≥ 4
Normospermia	normaali siemenneste
Atsoospermia	ei siittiöitä siemennesteessä
Oligospermia	siittiöiden määrä epänormaali
Astenospermia	siittiöiden liike epänormaali
Teratospermia	siittiöiden morfologia epänormaali
Aspermia	ei siemennestettä
Oligoastenoteratospermia	siittiöiden määrä, liike ja morfologia epänormaali

1.2.2 Atsoospermia

Atsoospermiaa havaitaan noin 1 %:lla miehistä. Syyt atsoospermiaan voidaan jakaa kolmeen luokkaan; hypotalamus-aivolisäke -akselin toimintahäiriöihin, primäärisiin spermatogeneesin häiriöihin sekä urogenitaalisten tielien tukkeumiin (Tournaye ym. 2017). Hypogonadotropinen hypogonadismi on hypotalamus-aivolisäke -akselin toimintahäiriö, jolle on tunnusomaista LH- ja FSH-erityksen puute, joka voi johtua geneettisistä tai ympäristötekijöistä ja/tai liittyä primaariseen aivolisäkkeen vaurioon tai sekundaariseen hypotalamuksen heikentyneeseen GnRH-tuotantoon (Pitteloud ym. 2010). Vähäinen LH:n erityys johtaa alhaiseen testosteronin tuotantoon ja vaikuttaa spermatogeneesiin vähentäen siittiöiden tuotantoa (Välimäki 2009). Hypogonadotropista hypogonadismia sairastavan miehen spermatogeneesi saadaan usein käynnistettyä käyttämällä gonadotropiineja tai gonadotropiinien vapauttajahormonia (Young

ym. 2019). Syynä primääriselle kivesperäiselle spermatogeneesin häiriölle voi olla jokin geneettinen poikkeavuus, kuten Klinefelterin syndrooma (47, XXY), Y-kromosomin mikrodeleettio/-deleetiot tai erilaiset sairaudet sekä aikaisemmin saadut solunsalpaaja- tai sädehoidot. Usein syy primääriseen spermatogeneesin puuttumiseen jää kuitenkin tuntemattomaksi (Fedder ym. 2004). Kivesperäiselle spermatogeneesin häiriölle on tyypillistä suurentunut FSH:n ja LH:n määrä seerumissa ja joskus myös seerumin poikkeavan pieni testosteronipitoisuus. Urogenitaaltiehyiden tukkeumissa siittiöiden kulkeutuminen kiveksistä lisäkivesten kautta siemennesteeseen on estynyt sterilisaation, anatomisen poikkeavuuden, infektion tai kiveksiin kohdistuneen trauman vuoksi.

Atsoospermiaan johtavat syyt voivat olla sekä sisäisistä että ulkoisista ympäristötekijöistä johtuvia tai synnynnäisiä geneettisiä tekijöitä. Sisäisistä ja ulkoisista ympäristötekijöistä johtuvia syitä ovat mm. kivistulehdus, saatu sytostaattihoito, siemenjohtimien tukkeumat sekä keskushermoston kasvaimet. (Tournaye ym. 2017). Tunnettuja synnynnäisiä geneettisiä tekijöitä löydetään sekä primäärisestä ja sekundaarisesta kivesten vajaatoiminnasta, että urogenitaalisen tukkeumista (Krausz ym. 2018).

1.2.2.1 Obstruktiivinen- ja Non-obstruktiivinen atsoospermia

Obstruktiiviseksi atsoospermiaksi (OA) kutsutaan tilaa, jossa siittiöiden tuotanto on normaalia, mutta niiden kulkeutuminen siemennesteeseen on estynyt. Non-obstruktiivisessa atsoospermiassa (NOA) siittiötuotanto on vaikeasti häiriintynyt. NOA on miehen lisääntymisongelmien vakavin muoto ja se aiheuttaa 10–15 % miesten hedelmättömyydestä (Chiba ym. 2016).

NOA-potilaista vain noin 30 %:lta löydetään jokin syy atsoospermiaan. Noin 17 %:a NOA:ista selittyy Klinefelterin oireyhtymällä (47, XXY) sekä Y-kromosomin mikrodeleettioilla (Fedder ym. 2004). Klinefelterin oireyhtymä on kromosomipoikkeavuus, joille on tunnusomaista yksi tai useampi ylimääräinen X-kromosomi. Siihen liittyy tyypillisesti siementiehyiden surkastuminen, atsoospermia ja hedelmättömyys. Oireyhtymän molekyyliperustaa ei tunneta täysin. Vaikka kaikki Klinefelter-alkion solut olisivat karyotyypiltään 47, XXY, pieni osa esipuberteettisten kivesten sukusoluista on diploideja (46, XY). Tämä johtuu todennäköisesti siitä, että ylimääräinen X-kromosomi voi hävitä spermatogonioiden mitoottisten jakautumisten aikana (Oates, 2016). Suurin osa varhaisista sukusoluista Klinefelterin oireyhtymää sairastavien esimurosikäisten poikien kiveksissä on karyotyyppejä 47, XXY, eivätkä nämä kantasolut pysty käymään läpi meioosia, vaan nykykäsityksen mukaan ne poistuvat elimistöstä apoptoosin avulla

pian murrosiän jälkeen (Vialard ym.2012). Vain spermatogoniot, joissa on normaali karyotyyppi 46, XY käyvät spermatogeneesin loppuun ja tuottavat haploideja siittiöitä, joita voidaan löytää spermatogeneesisaarekkeista.

Y-kromosomin atsoospermiatekijän (AZF) alueen mikroleetiot ovat yksi atsoospermiaan johtavista tunnetuista geneettisistä tekijöistä (Hopps, 2003). AZF-alueella on kolme lokusta, joita kutsutaan nimellä AZFa, AZFb ja AZFc, joista jokainen alue sisältää geenejä, jotka vastaavat osaltaan spermatogeneesistä (Vogt, 1996). Miehillä, joilla todetaan AZFc-deleetioita, voi siittiöiden löytymisprosentti kiveksistä olla jopa 70 %, kun taas miehiltä, joilla on täydellinen AZFa- ja AZFb-deleetio, on siittiöiden löytymisen todennäköisyys erittäin huono.

Tunnettujen geneettisten syiden lisäksi non-obstruktiivinen atsoospermia voi selittyä sisäisillä tai ulkoisilla ympäristötekijöillä. Tietyt sytostaattihoidot vaikuttavat jakautuviin soluihin sekä siittiöiden kantasoluihin, joiden DNA vaurioituu. Tämä aiheuttaa pysyvän atsoospermian (Howell ym. 1999). Osa sytostaateista on kuitenkin vähemmän gonadotoksisia ja johtavat vain tilapäiseen siittiöiden määrän vähenemiseen, koska ne vaikuttavat ensisijaisesti erilaistuviin siittiöihin eivätkä siittiöiden kantasoluihin (Meistrich 2013). Miehillä, joille suunnitellaan sytostaattihoidoja, suositellaan aina siittiöiden pakastusta fertiliteetin säilyttämiseksi ennen sytostaattihoidon aloitusta. Piilokiveksisten miesten laskeutumattomat kivekset ovat altistuneet liian korkealle lämpötilalle, mikä aiheuttaa siittiöiden kypsyshäiriön ja Leydigin sekä Sertolin solujen surkastumisen (Sangwan ym. 2021). Lisäksi NOA voi olla seuraus erilaisista infektioista (Bachir & Jarvi 2014). Noin 70 % NOA:a selittävistä syistä jää kuitenkin tuntemattomiksi (Cioppi ym. 2021).

NOA:ssa kivesten vajaatoiminta voi johtaa kolmeen erilaiseen kiveksen histologiseen tilaan, jotka ovat Sertoli cell-only (SCO), Maturation arrest (MA) sekä hypospermatogeneesi (Tournaye ym. 2017). SCO on näistä kaikkein yleisin. SCO-tila johtuu spermatogeneettisten kantasolujen tuhoutumisesta, jolloin kiveksestä puuttuvat kaikki spermatogeneesin solut ja siemennestissä on vain Sertolin soluja. Tarkkaa syytä Sertoli cell-only -syndroomaan ei tiedetä, mutta ainakin Y-kromosomin mikroleetio AZFc:n, (Azoospermia factor c), Klinefelterin oireyhtymän ja kiveskohjujen on tunnistettu liittyvän siihen (Stouffs ym. 2016). Maturation arrest on tila, jossa siittiöiden kypsyminen pysähtyy ennenaikaisesti. Pysähtyminen voi tapahtua spermatogonio- tai spermatosyyttivaiheessa, jolloin tilaa kutsutaan varhaiseksi kypsympysähtymiseksi (early maturation arrest). Jos siittiötuotanto pysähtyy spermatidivaiheessa, tilaa kutsu-

taan myöhäiseksi kypsymispysähdykseksi (late maturation arrest). Varhaisessa kypsymispysähdyksessä seerumin FSH pitoisuus on kohonnut ja testosteroni pitoisuus pienentynyt ja näiltä potilailta löydetään yleensä vähemmän kypsiä siittiöitä (Weedin ym. 2011). Hypospermatogeneesissä esiintyy kaikkia siittiöiden esiasteita, mutta niiden määrä on vähentynyt (Abdullah & Bondagji 2011).

1.3 Atsoospermian syyn selvittäminen ja hoito

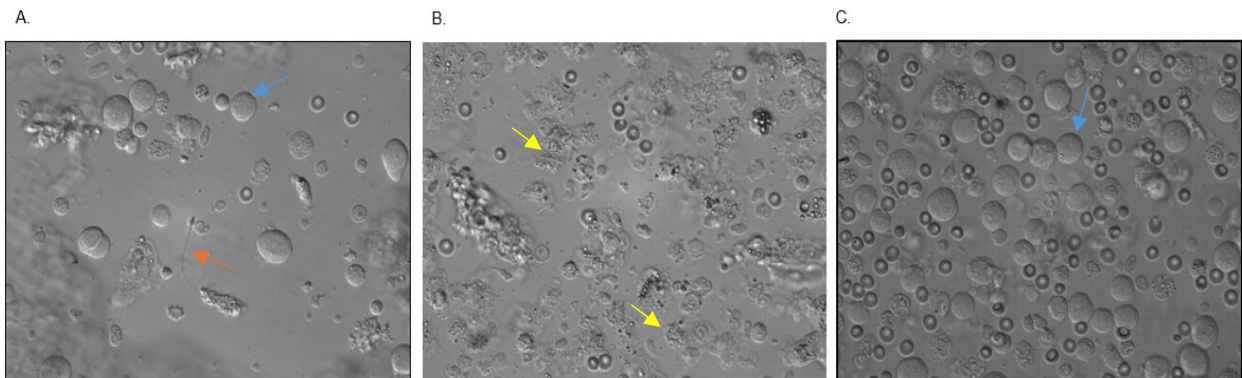
Vaikeaa miehen hedelmättömyyttä, jossa siittiöt puuttuvat siemennesteestä, pystytään hoitamaan mikrohedelmöityshoidon (ICSI, intracytoplasmic sperm injection) avulla, jos mieheltä löydetään siittiöitä suoraan kiveskudoksesta. Näin myös atsoospermisillä miehillä on mahdollisuus biologiseen lapseen. Atsoospermian syyn selvittäminen mahdollisimman tarkasti ennen hoitojen aloittamista on tärkeää. Siittiöiden löytymisen todennäköisyys vaihtelee NOA-miehillä merkittävästi riippuen etiologiasta, kun taas OA:ssa siittiöitä löytyy lähes aina. Atsoospermiapotilaiden alkututkimuksiin kuuluvat esitietojen selvittäminen, potilaan yleistilan tutkiminen, laboratoriokokeet, kivesten palpaatio ja kaikukuvaus. NOA voidaan alkuselvittelyiden perusteella tunnistaa noin 90 %:n spesifisyydellä (Huang ym. 2018).

Anamneesilla kartoitetaan suvussa esiintyviä sairauksia sekä mahdollisia atsoospermiaa aiheuttavia aikaisempia sairauksia, leikkauksia ja lääkityksiä. Yleistilan tutkimuksessa mitataan paino, pituus, ja huomioidaan ruumiinrakenne sekä karvoitus. Genitaalialueen tutkimuksessa arvioidaan kivesten ja lisäkivesten koko, mahdolliset kiveskyhmyt ja kiveskohjut sekä tutkitaan siemenjohtimet. Lisäksi tutkitaan siitin sekä tarkastetaan virtsaputken suuaukon sijainti. Kivekset kaikukuvataan kiveskohjujen ja kasvainten poissulkemiseksi. Peruslaboratoriotutkimuksilla pyritään sulkemaan pois yleissairaudet. Hormonimääritysten (LH, FSH, prolaktiini ja testosteroni) avulla tutkitaan aivolisäkkeen toimintaa ja arvioidaan lääkehoidon hyödyllisyyttä ennen mahdollista kivesbiopsiaa. Lisäksi kromosomitutkimuksella etsitään geneettisiä poikkeavuuksia, joita ovat muun muassa Klinefelterin oireyhtymä 47, XXY ja Y-kromosomin mikrodeleetiot (Klami ym. 2018). Geneettinen seulonta on tärkeää diagnoosin määrittämiseksi, kliinisen päätöksenteon tueksi sekä geneettisen neuvonnan perusteeksi (Krausz & Riera-Escamilla 2018). Hormonihoidolla saadaan yleensä palautettua siittiötuotanto hypogonadotrooppisessa hypogonadismissa. Hormonihoidoista saattaa olla apua myös ennen kivesbiopsiaa, jos testosteronipitoisuus on pieni. Tällöin yleensä käytettävät lääkkeet ovat selektiivinen estrogeenimodulaattori (tamoksifeeni), istukkagonadotropiini (hCG) tai aromataasiestäjä (letrotsoli). Hormonihoidon keston tulee olla riittävän pitkä, vähintään 4–6 kuukautta (Klami ym. 2018).

1.3.1 Kivesbiopsiamenetelmät

Obstruktivisessa atsoospermiassa siittiöitä onnistutaan löytämään kivesbiopsialla noin 90 %:lla miehistä (Coward & Mills 2017). Perinteisiä neulabiopsiatekniikoita, joilla siittiöitä voidaan etsiä kiveksistä tai lisäkiveksistä, on useita. Yleisimmät Suomessa käytetyt menetelmät ovat karkeaneulalaitteella tai aspiraatiotekniikalla (TESA) johtopuudutuksessa tehtävät kivesbiopsiat. NOA:ssa siittiöitä saattaa olla hyvin paikallisella alueella kiveksessä, joten perinteisellä neulabiopsialla ei useinkaan löydetä siittiöitä (Bernie ym. 2015). Kivesten mikrodisektioleikkauksen (MD-TESE, mikro-TESE) on todettu olevan tehokas ja turvallinen tapa löytää siittiöitä NOA-tapauksissa (Klami ym. 2024).

MD-TESE:ssä kives otetaan ihoviillon kautta esiin kivespussista ja *tunica albuginea* avataan pitkittäin tai poikittain. Leikkausmikroskoopin avulla pyritään tunnistamaan paksuimmat ja läpikuultavimmat tubulusrakenteet, jotka saattavat sisältää siittiöitä. Nämä kudospalat kerätään maljalle viljelynesteeseen. Kudospala hienonnetaan ja tutkitaan mikroskoopin avulla 400-kertaisella suurennoksella (Kuva 1). Jos siittiöitä nähdään solususpensiossa, se pakastetaan nesteeseen myöhempää ICSI-hoitoa varten. Kiveksestä löydetty siittiöt ovat yleensä aluksi liikkumattomia, mutta liike saadaan indusoitua siittiöihin mikrohedelmöityksen yhteydessä. Vaikka siittiö näyttäisi rakenteeltaan hyvinkin poikkeavalta ja epäkypsältä, voi hedelmöittyminen silti onnistua (Tanaka ym. 2015).



Kuva 1. MD-TESE- kudospalan näkökenttä 400-kertaisella suurennoksella katsottuna. A. Normaali spermatogeneesi. Maljalla nähdään meioottisia soluja (sininen nuoli) sekä siittiö (oranssi nuoli). B. Sertoli cell-only -syndrooma (SCO). Kuvassa nähdään pelkkää Sertolin solukkoa (keltainen nuoli), ei meiooseja. C. Maturatio Arrest (MA). Maljalla nähdään poikkeuksellisen paljon meioottisia soluja (sininen nuoli), ei siittiöitä.

MD-TESE -menetelmällä idiopaattisessa atsoospermiassa potilaalta löydetään siittiöitä noin 30–40 %:ssa tapauksista (Achermann ym. 2021). Klinefelter-potilailta (47, XXY) siittiöitä löydetään noin 50–70 %:ssa tapauksista (Klami ym. 2018). Y-kromosomin mikrodeleetio AZFa ja AZFb merkitsevät poikkeuksellisen huonoa ennustetta siittiöiden löytymiselle kiveskirurgian avulla. Tämän takia näille potilaille ei tehdä MD-TESE-leikkausta. Sitä vastoin suurimmalla osalla (70 %) AZFc-deleetio-potilaista löydetään siittiöitä (Hopps, 2003). Piilokiveksisillä miehillä siittiöiden löytymisprosentin on todettu olevan noin 70 (Bernie ym. 2013). MD-TESE-leikkauksen tulos on kuitenkin etukäteen yhä vaikeasti ennustettavissa. Turun yliopistollisessa keskussairaalassa otettiin MD-TESE-menetelmä käyttöön ensimmäisenä Suomessa vuonna 2008 ja nykyään lähes kaikki Suomen MD-TESE:t tehdään Tyksissä. Leikkaus on tehty tähän mennessä 410 potilaalle ja siittiöitä on löydetty 44 %:lla potilaista.

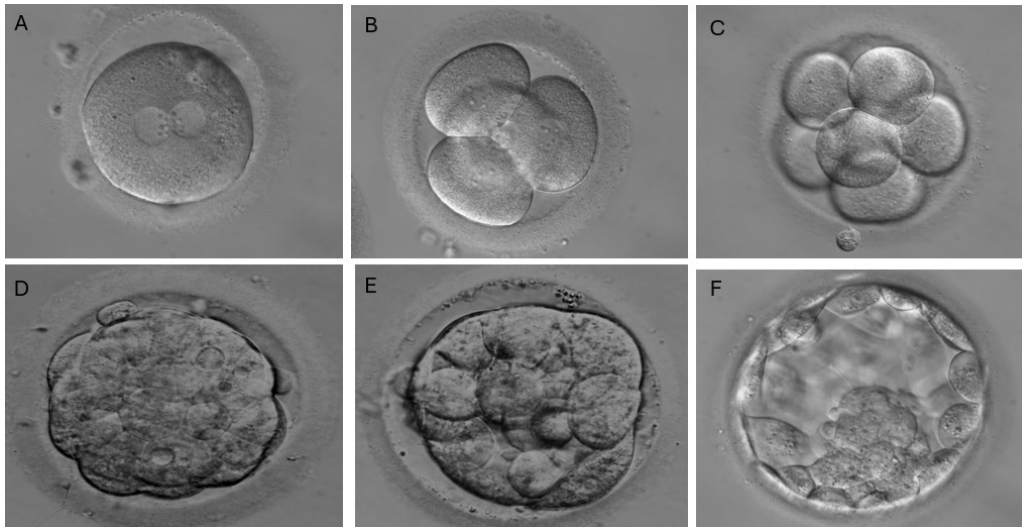
1.3.2 MD-TESE-ICSI

Koska kivesbiopsialla saadaan talteen vain vähän siittiöitä, vaatii kivesbiopsiasiittiöiden käyttö aina ICSI-hoidon. In vitro fertilisaatio (IVF) -hoidossa hoidettavan munasarjoihin kasvatetaan hormonihoidon avulla useita munasoluja. Pitkässä hoitomuodossa eli GnRH-agonistihoidossa munarakkuloiden kasvatusta edeltää naisen oman hormonitoiminnan jarrutus, jolloin gonadotropiinin ja estrogeenin pitoisuudet veressä laskevat. Kun munasarjat ovat lepotilassa, aloitetaan munarakkuloiden stimulaatio FSH:lla. Lyhyessä hoitomuodossa, GnRH-antagonistihoidossa, munarakkuloiden kasvatus aloitetaan kuukautiskierron alussa FSH:lla. GnRH-antagonistilla estetään enneaikainen LH-eritys ja munasolujen irtoaminen. Molemmissa hoitomuodoissa munasolujen kypsyminen varmistetaan istukkagonadotropiini (hCG) -pistoksella n. 36 tuntia ennen munasolujen keräämistä. Kasvatetut munarakkulat tyhjennetään ultraääniohjauksessa, emättimen kautta neulan avulla, koeputkeen. Munasolut etsitään laboratoriossa follikkelinesteestä mikroskooppia apuna käyttäen. Mikroinjektiossa siittiö viedään munasoluun ohuella lasikapillaarilla (injektiopipetti) mikroinjektio-laitteiston avulla. Alkioita viljellään laboratoriossa yleensä 3–5 päivää, minkä jälkeen yksi alkio siirretään kohtuun ja loput pakastetaan myöhempää käyttöä varten.

1.4 Alkioiden luokittelu ja valinta

Munasolujen hedelmöittyminen tarkistetaan 16–20 tunnin kuluttua (päivä 1) mikroinjektiosta, jolloin hedelmöittynyt munasolu eli tsygootti on esitumavaiheessa. Normaalisti hedelmöityneessä munasolussa on nähtävissä kaksi esitumaa, maternaalinen ja paternaalinen, sekä kaksi poistosolua, jotka ovat peräisin meioosin I ja II jakautumisesta. Tsygoottivaiheessa esitumien määrästä ja sijainnista, tumien koosta sekä poistosolujen sijainnista voidaan päätellä alkion kromosomipoikkeavuuksia (Gianaroli ym. 2003). Epänormaalisti hedelmöityneessä munasolussa esitumia voi olla yksi, jolloin maternaalinen tai paternaalinen esituma on jäänyt muodostumatta tai esitumia voi olla useampia, jolloin poistosolun perintöaines on jäänyt munasoluun tai munasolussa on epänormaali määrä kromosomeja.

Jakautumisvaiheen alkiot (päivä 2 ja 3) luokitellaan blastomeerien jakautumisnopeuden, fragmentaation sekä solusymmetrian perusteella (Veck, 1999). Lisäksi arvioidaan sytoplasman rakennetta sekä tumien lukumäärää. Blastokystivaiheen alkiot (päivä 5–6) luokitellaan niiden laajentumisasteen sekä sisäsolumassan ja trofoektodermin solumäärän ja morfologian mukaan (Gardner & Schoolcraft 1999) (Taulukko 2). 24 tunnin kuluttua hedelmöitymisestä alkion tulisi olla 2-soluvaiheessa. 42–44 tunnin kuluttua hedelmöityksestä alkion tulisi olla 4-soluinen, ja 64–66 tunnin kuluttua 8-soluinen. Neljäntenä päivänä hedelmöityksestä alkio on optimaalisessa tilanteessa saavuttanut morulavaiheen, jolloin solujen sidokset tiivistyvät ja solumäärä edelleen kasvaa. Viidentenä päivänä alkion tulisi olla laajentunut blastokysti, jonka sisäsolumassa on tiivis ja sisältää paljon soluja. Trofoektodermin tulisi sisältää paljon soluja (Kuva 2). Useissa laboratorioissa on käytössä Time-lapse -menetelmä, jossa alkionkehitystä voidaan seurata kameran avulla koko viljelyn ajan. Menetelmällä pystytään näkemään tarkasti alkionkehityksen vaiheet ja erot alkioiden välillä. Alkion siirto kohtuun sekä alkioiden pakastus nestetyyppeen voidaan tehdä päivinä 2–6. Nykyään useimmissa laboratorioissa on siirretty blastokystiviljelyyn, jolla voidaan tehostaa alkiovalintaa.



Kuva 2. Alkionkehitys tsygootista blastokystiksi. A. Hedelmöitynyt munasolu eli tsygootti, jossa nähdään kaksi esitumaa. B. Päivän 2 alkio, jossa nähdään 4 blastomeeriä. C. Päivän 3 alkio, jossa nähdään 8 blastomeeriä. D-E Päivänä 4 alkio tiivistyy morulaksi ja alkaa kavitoitua. F. Päivän 5 blastokysti.

Taulukko 2. Blastokystien luokittelu (Gardner & Schoolcraft 1999)

1 Nesteontelo alle puolet alkion tilavuudesta			
2 Nesteontelo yli puolet alkion tilavuudesta			
3 Nesteontelo täyttää blastokystin			
4 Alkio laajenee ja zona ohenee			
5 Alkiokuori aukeaa			
6 Alkio tulee ulos alkiokuoresta			
Sisäsolumassa	A Paljon soluja, tiiviisti pakkautunut	B Kohtalaisesti soluja, löyhästi pakkautunut	C Vähän soluja
Ulkosolumassa	A Paljon soluja	B Kohtalaisesti soluja	C Vähän soluja

Alkiolaadun arviointi on tärkeä osa IVF-hoitoa. Morfologian arviointi, parhaan alkion tunnistaminen ja sen siirtäminen kohtuun tuoresiirrossa tai pakastusalkionsiirrossa sekä alkioiden pakastaminen myöhempää alkionsiirtoa varten lisäävät huomattavasti raskauden todennäköisyyttä. Lisäksi alkion huolellisella valinnalla pystytään parhaassa tapauksessa välttämään tuloksettomat alkionsiirrot, jotka kuormittavat potilasta henkisesti sekä vievät tarpeettomasti hoitavan yksikön resursseja. Alkion morfologian arvioimiseksi on kehitetty useita malleja, joilla pyritään standardoimaan alkioluokittelua (Pellegrini & Cozzolino 2023). Monimutkaisemmissa järjestelmissä käytetään kaavaa ennustamaan raskauden todennäköisyys alkion ulkonäön ja kehityksen perusteella. Yhdysvalloissa kehitetyn alkioluokitusjärjestelmän SARTCORE:n avulla alkio voidaan jakaa hyviin, keskinkertaisiin ja huonoihin alkioihin. Luokittelun avulla pyritään raskauden todennäköisyyden ennustamisen lisäksi myös parantamaan klinikoiden laadunvarmistusta. (Racowsky ym. 2010).

Usean morfologisen ominaisuuden on todettu vaikuttavan alkion kykyyn tuottaa raskaus. Raskauden todennäköisyys kasvaa, jos alkio jakautuu mitoottisesti ensimmäisen kerran 25–27 tunnin kuluttua hedelmöityksestä (Lundin ym. 2001). Syntyvyysluku nousee, kun kolmepäiväinen alkio on kahdeksansoluinen. Fragmentin lisääntynyt määrä, > 10 % alkion tilavuudesta, sekä solujen epäsymmetrisyys ja monitumaisuus vaikuttavat negatiivisesti syntyvyyteen (Racowsky ym. 2011). Blastokystivaiheen alkion hyvän morfologian, alkion kiinnittymisen kohtuun sekä syntyvyysluvun välillä on osoitettu olevan vahva korrelaatio (Goto ym. 2011). Hyvä- ja huonolaatuisista alkioista alkaneiden raskauksien välillä ei ole osoitettu olevan merkitsevää eroa suhteessa keskenmenojen todennäköisyyteen (Oron ym. 2014).

1.5 Kiveskudoksesta löydettyjen siittiöiden käyttö hedelmöityshoidoissa

Koska useiden siittiöperäisten tekijöiden on osoitettu liittyvän alkiolaatuun, on siittiöiden ominaisuuksiin alettu kiinnittää erityistä huomiota miehen vaikean hedelmättömyyden hoidossa (Colaco & Sakkas 2018). Kiveskudoksesta kerättyjen siittiöiden sekä ejakulaattisiittiöiden välillä on todettu eroja kromatiinin kypsytyden (Haidl ym. 1994), DNA-vaurioiden esiintyvyyden (Esteves ym. 2017) sekä koodaavien ja ei-koodaavien mikroRNA:iden määrässä (Vojtech ym. 2014). Nämä erot kiveskudos- ja ejakulaattisiittiöiden välillä johtuvat todennäköisesti siitä, että kiveskudoksesta poimitut siittiöt eivät ole käyneet läpi viimeisiä kypsymisprosesseja, jotka tapahtuvat lisäkivekseen kuljetuksen aikana. Kiveskudossiittiöillä on raportoitu olevan vähemmän DNA-vaurioita kuin ejakulaattisiittiöillä, mikä voi viitata DNA-vaurioiden määrän lisää-

tymiseen lisäkivekseen kuljetuksen aikana (Esteves ym. 2017). Siemensyöksyssä siittiöt joutuvat kosketuksiin siemenrakkulasta sekä eturauhasesta peräisin olevien nesteiden kanssa. Nämä nesteet sisältävät sekä koodaavia että ei-koodaavia mikroRNA:ita. Niiden sitoutumisella siittiöön saattaa olla vaikutuksia alkion kehityksessä (Vojtech ym. 2014).

Aneuploidia, jossa sukusolussa on väärä määrä kromosomeja, syntyy epäonnistuneen meiotin jakautumisen seurauksena. Aneuploidiat ovat yleisiä naisen munasoluissa ja ne lisääntyvät naisen iän myötä (Magli ym. 2020). Siittiöiden aneuploidioiden määrä on huomattavasti alhaisempi verrattuna munasolujen aneuploidioihin (Fowler ym. 2019). Hedelmättömillä miehillä aneuploidioiden määrän on osoitettu lisääntyvän sen mukaan, kuinka vaikea hedelmättömyys on (Mougou-Zerelli ym. 2011). Non-obstruktiivisesta atsoospermiasta kärsivien miesten siittiöissä on havaittu normaalia enemmän aneuploidioita (Gianaroli ym. 2005b; Sun ym. 2008).

Kiveskudoksesta kerätyt siittiöt saattavat olla täysin muodostuneita, mutta ne eivät ole saavuttaneet vielä progressiivista liikkuvuutta (Gervasi & Visconti 2017). Ejakulaattisiittiöitä käytettäessä siittiöiden liikkuvuuden on osoitettu vaikuttavan positiivisesti munasolujen hedelmöittämiseen ja parempaan alkioalaatuun (Zheng ym. 2016). On kuitenkin osoitettu, että siittiöiden liike ei ole aina välttämätöntä niiden hedelmöittämiskyvylle (Shulman 1999). Kiveskudoksesta kerättyjen siittiöiden liike on yleensä hyvin heikko, sillä siittiö saa liikkuvuuden vasta lisäkiveksiin kulkeutumisen aikana. Kun TESE-ICSI:ssä käytetään teofylliiniä, voidaan siittiöiden liikettä parantaa, ja hedelmöityskykyiset siittiöt voidaan helpommin tunnistaa (Flannigan & Schlegel 2019).

Vaikka kiveskudossiittiöillä on osoitettu olevan kyky aktivoida ja hedelmöittää munasolu ICSI-hoidossa (Tournaye ym. 1995), on kuitenkin epäselvää, miten kiveskudossiittiöillä alkunsa saaneiden alkioiden kehitys eroaa niiden alkioiden kehityksestä, jotka ovat saaneet alkunsa ejakulaattisiittiöillä. Atsoospermisilla miehillä on havaittu olevan useita kromosomipoikkeavuuksia (Gianaroli ym. 2005). On olemassa näyttöä, että atsoospermia ja kiveskudossiittiöiden käyttö johtaa alhaisempaan munasolujen hedelmöittämiseen, heikentyneeseen alkion kehitykseen ja implantaatioon verrattuna ejakulaattisiittiöihin. Kliinisiin raskaustuloksiin siittiöiden alkuperä ei kuitenkaan välttämättä vaikuta (Desai ym. 2018).

1.5.1 Munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu OA- ja NOA-potilaiden hoidoissa

Obstruktiivisessa atsoospermiassa munasolujen hedelmöitymisen on raportoitu olevan hieman parempi kuin Non-obstruktiivisessa atsoospermiassa (Ghanem ym. 2005). Syntyvien lasten määrässä NOA:n ja OA:n välillä ei ole kuitenkaan havaittu eroa (Bocca ym. 2017). Klamin ym. (2024) tutkimuksessa hedelmöitymisluvut, raskauserot sekä syntyvien lasten määrä alkion siirtoa kohti NOA-, OA- ja ejakulaattisiittiöillä tehdyissä ICSI-hoidoissa olivat samankaltaiset. Myöskään Non-obstruktiiviseen atsoospermiaan johtavien diagnoosien välillä ei ole osoitettu olevan vaikutusta raskaustuloksiin (Aydin ym. 2015; Klami ym. 2024).

Kivesbiopsiasiittiöillä alkunsa saaneiden alkioiden laadusta löytyy vielä niukasti tutkimustietoa. Van Marion ym. (2021) on havainnut siittiöiden alkuperän vaikuttavan alkion kehitykseen jo ensimmäisen solusyklin aikana. Blastomeerien jakautumisen todettiin olevan epäsynkronista alkioilla, jotka on saatu aikaan kiveskudoksesta löydetyillä siittiöillä. Alkiolaadun, solujen jakautumisen sekä blastokystien muodostumisen on osoitettu olevan selvästi huonontunut NOA- ja OA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa verrattuna alkioihin jotka on saatu aikaan ejakulaattisiittiöillä tehdyissä hoidoissa (Loutradi ym. 2006; Vernaev ym. 2003; Göker ym. 2002). Desai ym. (2018) ovat havainneet, että alkioiden kehittyminen morula- ja blastokystivaiheeseen on merkittävästi alentunut NOA-potilaiden hoidoissa verrattuna alkioihin, jotka on saatu OA-potilaiden hoidoissa. Toisaalta myös täysin päinvastaisia tuloksia on havaittu, Zaninovic & Schlegel (2013) havaitsivat alkiokehityksen olevan samanlainen sekä NOA- että OA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa. Myös Desain ym. (2009) tutkimuksessa NOA- ja OA- potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa alkiolaatu ja kliininen raskauserot oli samanlainen, mutta munasolujen hedelmöittyminen oli huonompaa NOA-ryhmässä. Lisätutkimuksia tarvitaan, jotta saadaan tarkempaa varmuutta, vaikuttavatko Non-obstruktiivisen atsoospermiaan johtavat syyt negatiivisesti alkiolaatuun.

Siittiöiden aneuploidian, poikkeavan kromatiinirakenteen, DNA-fragmentaation, muuttuneen siittiön epigeneettisen profiilin ja Y-kromosomin mikroleetioiden on havaittu vaikuttavan negatiivisesti alkion laatuun (Coloco & Sakkas 2018). Toisaalta Park kumppaneineen (2015) ei havainnut eroa hyvälaatuisten alkioiden osuudessa ja munasolujen hedelmöitymisessä NOA:n eri histopatologisten luokkien välillä, mutta viivästynyt alkiokehitys oli kuitenkin osoitettavissa maturaatio-arrest-ryhmässä.

Y-kromosomin mikroleetio AZFc:n on useassa tutkimuksessa raportoitu ennustavan alhaisempaa hedelmöittymislukua kuin muiden NOA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa (Yamaguchi ym. 2020). Alkioiden lisääntyneen aneuploidian sekä heikentyneen alkionkehityksen on todettu liittyvän AFZc-deleetioon (Mateu ym. 2010). Y-deleetion on todettu huonontavan merkittävästi kliinisen raskauden ja synnytyksen todennäköisyyttä (Zhang ym. 2021).

1.6 Tutkimuksen tavoitteet

Tämä työ on retrospektiivinen tutkimus, jolla pyritään lisäämään tietoa NOA-potilaiden siittiöillä tehtyjen ICSI-hoitojen alkiolaadusta. Verrokkiryhmänä käytetään alkioita, jotka on saatu aikaan OA-potilailta perinteisellä neulabiopsialla (TESA) talteen otetuilla siittiöillä. Koska MD-TESE:en valikoituvien potilaiden kivesten toiminta on usein vaikeasti häiriintynyt, on mahdollista, että potilaiden eri diagnooseilla on vaikutusta siittiöiden kykyyn tuottaa elinkelpoisia ja raskauden aikaansaavia alkioita. Tutkimuksessa selvitetään, onko eri diagnoosin saaneiden NOA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa munasolujen hedelmöitymisessä ja alkiolaadussa eroavaisuuksia.

MD-TESE -menetelmällä on mahdollista löytää siittiöitä myös potilailta, joilta se ei perinteisellä neulabiopsialla ole mahdollista siittiötuotannon vähäisen määrän ja paikallisuuden takia. Tällöin saadaan usein talteen vain yksittäisiä siittiöitä, eikä hedelmöitykseen käytettäviä siittiöitä päästä valitsemaan morfologian perusteella. Tässä, ns. vaativassa mikrohedelmöityksessä, käytetään usein kaikki elävät siittiöt. Tutkimuksessa verrataan, onko munasolun hedelmöitymisessä sekä alkiolaadussa eroa näiden vaativien ja niiden mikrohedelmöitysten välillä, joista siittiöitä löydetään enemmän ja niistä päästään valikoimaan hedelmöitykseen morfologialtaan parhaat yksilöt.

Alkionlaadun tiedetään liittyvän vahvasti munasolun ominaisuuksiin (Demko ym. 2016). Kuten muissakin ICSI-hoidoissa, myös kivesbiopsiasiittiöillä tehdyissä hoidossa merkittävin yksittäinen hoidon onnistumista ennustava tekijä on naisen ikä (Bocca ym. 2017). Tutkimuksessa otetaan huomioon NOA- ja OA-potilaan potilaan puolison taustatekijät; ikä, painoindeksi, munasolujen määrä sekä hoitomuoto (agonisti/antagonisti), jotta näistä tekijöistä johtuvat erot alkiolaadussa saadaan suljettua pois.

Tutkimuskysymykset:

1. Eroavatko NOA- ja OA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu toisistaan?
2. Miten NOA-potilaan diagnoosi vaikuttaa munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun?
3. Onko vaativien ja helppojen MD-TESE-ICSI -hoitojen välillä eroa munasolujen hedelmöitymisessä ja alkiolaadussa?

Koska aikaisempia tutkimuksia on varsin vähän, ja tulokset niissä ovat ristiriitaisia, on vaikea arvioida alkiolaatua NOA- ja OA-potilaiden hoitojen välillä. Hypoteesina pidän kuitenkin, että NOA-potilaan diagnoosien välillä saattaa olla eroa. Lisäksi oletan, että vaativissa MD-TESE-ICSI -hoidoissa munasolujen hedelmöittyminen on huonompaa ja alkiolaatu on heikompi kuin helpoissa MD-TESE-ICSI -hoidoissa, sillä on osoitettu, että kun päästään valitsemaan morfologialtaan hyvä siittiö, on munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu parempi.

Tiedetään, että alkion ulkoiset ominaisuudet ovat yhteydessä niiden kykyyn tuottaa raskaus. Tämän tutkimuksen tavoitteena on lisätä tietoa NOA-potilaan siittiöillä aikaansaatuisten alkioiden laadusta, jotta voidaan jatkossa ennustaa paremmin hoidon onnistumisen todennäköisyyttä. Tutkimuksen toivotaan tuovan myös lisää tietoa hoidon suunnitteluun laboratorion näkökulmasta, jotta hoidon laatua ja tehokkuutta voidaan parantaa. Lisäksi tavoitteena on saada tietoa hoidon onnistumisen todennäköisyydestä hoidossa oleville pareille, joilla lapsettomuus johtuu miehen vaikeasta infertiliteetistä.

2. AINEISTO JA MENETELMÄT

2.1 Tutkimuksessa käytettävä aineisto

Tutkimusaineistona käytettiin kaikkia alkiotietoja, jotka saatiin NOA- ja OA-potilaille tehdyistä MD-TESE-ICSI- ja TESA-ICSI-hoidoista Tyksissä vuosina 2009–2023. Siittiöitä kerättiin MD-TESE- sekä TESA-menetelmin 2008–2023 välisenä aikana. Potilaat valikoituivat joko MD-TESE:en tai TESA:an alkututkimusten; esitietojen, potilaan yleistilan, laboratoriotestien (LH, FSH, testosteroni, karyotyypitys, Y-kromosomin mikroleetiot), kivesten koon sekä kivesten ultraäänitutkimuksen perusteella. Jos potilaalta ei löytynyt siittiöitä perinteisellä neulabiopsialla, hänelle tehtiin MD-TESE. Tarkasteltaessa NOA-potilaiden taustadiagnoosin vaikutusta alkioalaatuun jaettiin kaikki NOA-potilaat johonkin neljästä ryhmästä; AZFc, Klinefelter, Idiopaattinen ja Muut (piilokives, anabolisten steroidien käyttö, aikaisempi sytostaattihoito sekä eräs harvinainen syndrooma) (Taulukko 3).

Taulukko 3. OA- ja NOA-potilaiden sekä NOA-diagnoosiryhmien potilas- ja hoitomäärät

	Potilaita (n)	ICSI-hoitoja (n)
OA	49	80
NOA	54	82
NOA-diagnoosiryhmät:		
AZFc	4	8
Idiopaattinen	22	35
Klinefelter	13	19
Muut	15	20

2.2 Siittiöiden keräysmenetelmät

2.2.1 Kiveksen mikrodissektioleikkaus, MD-TESE

MD-TESE:en valikoituivat NOA-potilaat, joiden atsoospermian taustalla arvioitiin olevan spermatogeneesin häiriö. Vuosina 2008–2020 leikkaukset tehtiin yleisanestesiassa ja vuodesta 2020 lähtien kaikki miehet leikattiin paikallispuudutuksessa. Kivespussin iho viillettiin keskiviivasta ja *tunica albuginea* avattiin useimmissa tapauksissa pystysuoraan. Biopsiat poimittiin kohdista, joissa tubulus oli mahdollisimman paksua ja läpikuultavaa ja laitettiin nelikuoppamaljalle viljelynesteeseen (G-Gamete™, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi). Biopsiapaloja otettiin yleensä 20 kpl molemmista kiveksistä. Tämän jälkeen jokainen biopsiapala siirrettiin omalle

maljalleen ja suspentoitiin neulojen avulla niin, että siementiehyiden sisältö saatiin ulos tubuluksesta. Kaikki palat tarkastettiin käänteisfaasikontrastimikroskoopilla, 400-kertaisella suurennoksella. Yhdestä palasta otettiin noin puolet PAD (patologisanatominen diagnoosi) -näytteeksi, joka lähetettiin patologin arvioitavaksi. Näytteet, joista löydettiin siittiöitä, yhdistettiin ja jaettiin vähintään kahdeksaan pakastuserään. Näytteet pakastettiin spermanpakastusolkiin joko glyserolipakastusliuoksella (Glyseroli-viljelyliuos 1:3) tai kaupallisella spermanpakastusliuoksella (SpermFreeze Solution™, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi) valmistajan ohjeen mukaan. Näytteet varastoitiin nestetyppisäiliöihin.

2.2.2 Kiveksen neulabiopsia, TESA

OA-potilaiden neulabiopsiat otettiin paikallispuudutuksessa. Ihoon tehtiin pieni viilto ja biopsiat (n. 6 kpl) otettiin 14G Biopty™ -biopsialävistäjällä (Bard Urological, Covington, GA, USA). Näytepalat laitettiin yksitellen viljelyliuokseen (G-Gamete™, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi) viljelymaljalle. Siementiehyiden sisältö suspentoitiin neulojen avulla, minkä jälkeen paloja tarkasteltiin käänteisfaasikontrastimikroskoopin avulla 400-kertaisella suurennoksella. PAD-näyte otettiin tarvittaessa. Näytepalat käsiteltiin ja pakastettiin kuten MD-TESE-näytteet.

2.3 MD-TESE- ja TESA-ICSI ja alkioviljely

Agonisti- tai antagonistihoidon avulla TESA- ja MD-TESE potilaiden puolisoiden munasarjoihin kasvatettiin useita samaan aikaan kehittyviä munarakkuloita. Munarakkuloiden kehitystä seurattiin ultraäänellä munasolupunktioajankohdan määrittämiseksi. Potilas pisti hCG-irrotuspistoksen 36 tuntia ennen munasolukeräystä, minkä tarkoituksena oli kypsyttää ja irrottaa kerättävät munasolut. Follikkelit tyhjennettiin koeputkeen transvaginaalisessa ultraääniohjauksessa, minkä jälkeen munasolu-kumulus-kompleksit poimittiin follikkelinesteestä viljelymaljoille. Kumulus-solut poistettiin hyaluronidaasientsyymillä (HYASE-10X™, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi) avulla ennen mikrohedelmöitystä.

Puolison munasolunkeräyspäivänä sulatettiin yleensä yksi siittiöolki. Näytteeseen lisättiin hitaasti 3 ml viljelynestettä (G-IVF™ PLUS Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi), minkä jälkeen näyte sentrifugoitiin 5 min/650xg. Sakkaan lisättiin noin 100 µl viljelynestettä. Ennen näytteen pipetoimista etsintämaljalle siihen lisättiin 1:10 Theophyllineä (GM501 SpermMobil™, Gynemed GmbH & Co., Lensahn, Saksa) siittiöiden liikkeen indusoimiseksi. Solusus-

pensiosta tehtiin maljalle useita 25–35 µl pisaroita. Lisäksi maljalle tehtiin PVP (polyvinylpyrrolone) -pisara (PVP, ICSI™, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi), johon löydetyt siittiöt kerättiin ja jossa ne immobilisoitiin. Pisarat peitettiin öljyllä (G-Ovoil™, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi). Kun solususpensio oli käyty läpi, arvioitiin löydetyt siittiöt ja tarvittaessa sulatettiin toinen olki. Munasolut hedelmöitettiin mikrohedelmöitystekniikalla (Palermo ym. 1992). Hedelmöityksen jälkeen munasolut siirrettiin viljelymaljalle viljelyliuospisaroihin (G-1™ Plus, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi) ja siirrettiin soluviljelykaappiin (+37°C).

Munasolujen hedelmöittyminen tarkistettiin 16–20 tunnin kuluttua hedelmöityksestä. Kolmantena viljelypäivänä alkio siirrettiin blastokystiviljelyliuokseen (G-2™ Plus, Vitrolife Sweden AB, Frölunda, Ruotsi). Alkioita viljeltiin matalahappi-inkubaattorissa (6 % O₂) 3–6 päivää, minkä jälkeen yksi alkio siirrettiin kohtuun. Loput alkioit pakastettiin tai ne hylättiin, jos niiden laatu todettiin huonoksi. Alkioit luokiteltiin tsykoottivaiheesta aina siihen saakka, kunnes ne siirrettiin kohtuun, pakastettiin nestetyypeen tai hylättiin. Pakastetut alkioit luokiteltiin lopullisesti sulatuksen jälkeen ennen siirtoa tai hylkäystä. Varhaisalkioit luokiteltiin blastomeerien jakautumisnopeuden ja alkion rakenteellisten piirteiden (fragmentin määrä, blastomeerien keskinäinen kokoero sekä blastomeereissä näkyvien tumien määrä) perusteella. Blastokystivaiheen alkioit luokiteltiin Gardnerin & Schoolcraftin luokittelun mukaisesti. Alkioitiedot kirjattiin solutietokaavakkeeseen sekä 2012 lähtien potilastietojärjestelmään.

2.4 Alkioiden luokittelu tutkimusta varten

Alkiotiedot koottiin solutietokaavakkeista. Alkiot luokiteltiin kolmeen ryhmään; hyviin, keskinkertaisiin sekä huonoihin niiden jakautumisnopeuden sekä rakenteellisten piirteiden perusteella. Luokittelun apuna käytettiin SARTCORE-luokitusta (Taulukko 4).

Taulukko 4. Alkioiden SARTCORE-luokittelu alkion iän mukaan. Blastokystivaiheen alkioiden luokittelussa 2–5 tarkoittaa blastokystin laajentumisastetta ja A-C sisä- ja ulkosolumassan määrää ja sisäsolumassan kompaktointumista.

Luokka	Jakautumisvaiheen alkio	Blastokystivaiheen alkio
HYVÄ	Päivä 2: 4 blastomeeriä Päivä 3: 8 blastomeeriä fragmentaatio < 10 % alkiosta blastomeerit samankokoisia ei monitumaisuutta	4AA/4BB, 4AB/4BA 5AA/5BB, 5AB/5BA
KESKINKERTAINEN	Päivä 2: 2–6 blastomeeriä, Päivä 3: 6–7 tai yli 8 blastomeeriä fragmentaatio 10–25 % alkiosta blastomeerien kokoero enintään 2 ei monitumaisuutta	2AA/2BB, 2AB/2BA 3AA/3BB, 3AB/3BA
HUONO	Päivä 2: alle 2 blastomeeriä Päivä 3: alle 6 blastomeeriä fragmentaatio > 25 % alkiosta blastomeerien kokoero 3 monitumaisuutta	2-5CC sekä alkiot, joiden jakautuminen pysähtyi ennen blastokystivaihetta

Alkiotietojen lisäksi kerättiin tiedot NOA- sekä OA-potilaiden puolisoitten taustatekijöistä (ikä, painoindeksi, munasolujen määrä sekä hoitomuoto (agonisti/antagonisti) ja pariskunnille tehtyjen hoitojen määrä). Tarkasteltaessa ICSI:n vaikeusasteen vaikutusta alkiolaatuun, MD-TESE-ICSI:t jaettiin vaativiin ja helppoihin ICSI-hoitoihin. ICSI luokiteltiin vaativaksi, jos näytteestä löydettiin liikkuvia siittiöitä enintään saman verran kuin puolisoilta oli saatu munasoluja ja niistä ei päästy valitsemaan morfologialtaan hyviä siittiöitä. Jos liikkuvia siittiöitä löydettiin enemmän kuin puolisoilla oli munasoluja ja niistä päästiin valitsemaan morfologiltaan parhaat, luokiteltiin ICSI helpoksi.

2.5 Tilastoanalyysit

Ennen varsinaista tutkimusaineiston analysointia verrattiin, poikkeavatko NOA- ja OA-potilaiden puolisoitten taustatekijät toisistaan hoidoista saatujen kypsien munasolujen määrän, hoidettavan naisen iän, painoindeksin tai hoitomuodon suhteen. Jatkuvien muuttujien normaalisuusoletusta tarkasteltiin Shapiro-Wilk- ja Kolmogorov-Smirnov -testeillä, ja visuaalisesti Q-Q-kuvaajien ja histogrammin avulla. Normaalijakautuneille muuttujille (naisen ikä) ilmoitettiin keskiarvot ja keskihajonnat, ja epäparametrisille muuttujille (munasolumäärä ja painoindeksi) ilmoitettiin mediaanit ja ala- ja yläkvartiilit. Kategoriset muuttujat (hoitomuoto) ilmoitettiin lukumäärinä (n), ja tarvittaessa prosenttiosuuksina (%) tai luottamusväleinä (LV).

Tutkimuskysymysten 1–3 lähtötilanteen kategoristen muuttujien (NOA/OA-ryhmä, NOA-potilaan diagnoosi sekä helppo/vaativa ICSI) vertailu normaalisti jakautuneissa muuttujissa tehtiin t-testillä, kun taas epäparametrisessa tapauksessa joko Mann-Whitney U-testillä tai Kruskal-Wallis-testillä. Kun Kruskal-Wallis-testi oli tilastollisesti merkitsevä, tehtiin jatkovertailu Dwass, Steel, Critchlow-Fligner-testin avulla sen selvittämiseksi, mitkä luokat eroavat toisistaan. Kahden kategorisen muuttujan osuuksia vertailtiin Fisherin tarkalla testillä. Nämä ilmoitettiin lukumäärinä (n) ja tarvittaessa prosenttiosuuksina (%) tai luottamusväleinä (LV).

NOA- ja OA-potilaiden siittiöiden vaikutusta kypsien munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun tarkasteltiin kategoristen mittauksien toistomittausmalleilla, jotka sisälsivät yhden subjekti-spesifinen muuttujan (hoitokerta), tekijöiden välisen muuttujan (NOA tai OA) ja näiden yhdysvaikutuksen (hoitokerta \times ryhmä). Mallit vakioitiin naisen taustatekijöiden (ikä, painoindeksi, munasolujen määrä/henkilö, hoitomuoto) suhteen. Malleista pudotettiin pois vuorovaikutus (hoitokerta \times ryhmä), koska se ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Alkiolaadun kategorisessa toistomittausmallissa otettiin huomioon luokkien järjestys (hyvä, keskinkertainen, huono ja ei-hedelmöittynyt) ja kyseinen malli estimoitiin Laplace-menetelmää käyttäen. NOA-potilaiden taustadiagnoosin vaikutusta munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun sekä vaativien ja helppojen ICSI-hoitojen vaikutusta munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun tarkasteltiin samalla menetelmällä.

Testien merkitsevyytasoksi asetettiin 0,05. Analyysit ja kuvaajat tehtiin SAS- (versio 9.4) ja JMP (versio 17 Pro) -ohjelmilla.

3. TULOKSET

3.1 Alkiolaatu ja munasolujen hedelmöittyminen NOA- ja OA-potilaiden ICSI-hoidoissa

3.1.1 Naisten taustatekijät NOA- ja OA-ryhmissä

NOA- ja OA-ryhmiä vertailtiin naisen taustatekijöiden; hoidoista saatujen kypsien munasolujen määrän, hoidettavan naisen iän, painoindeksin ja hoitomuodon suhteen (Taulukko 5). Ryhmien välillä ei näiden taustatekijöiden suhteen ollut tilastollisesti merkitsevää eroa.

Taulukko 5. Naisen taustatekijät NOA- ja OA-ryhmissä.

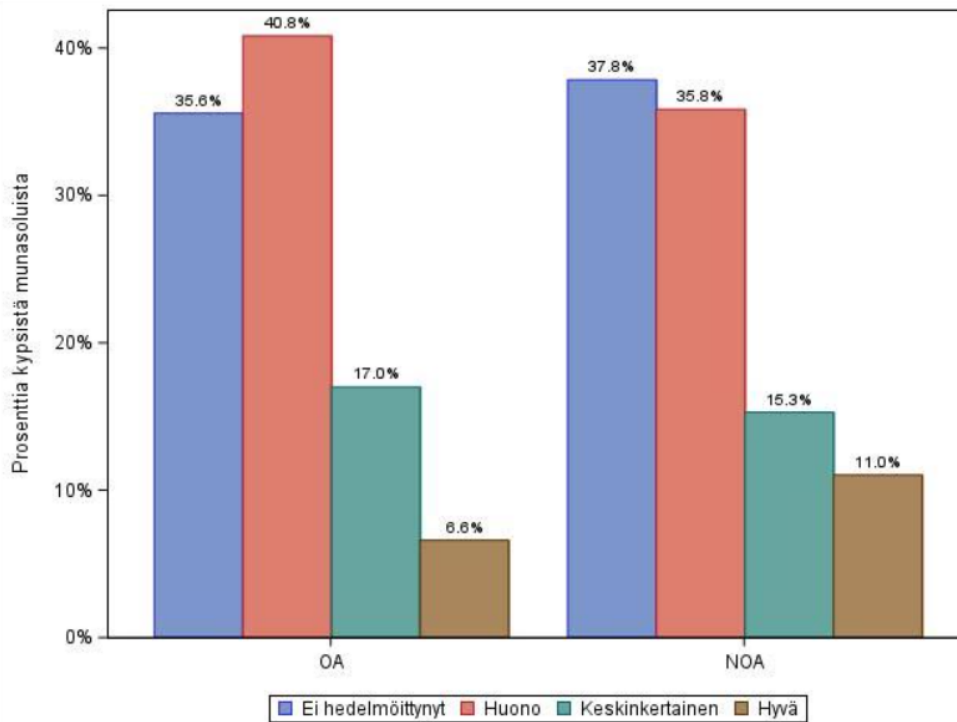
	KAIKKI	NOA (N=52)	OA (N=49)	P-ARVO
NAISEN IKÄ keskiarvo (keskihajonta)	32 (4,4)	32 (4,5)	31 (4,3)	0,50
BMI mediaani (Q1, Q3)	25 (22, 29)	26 (22, 28)	26 (22, 28)	0,83
HOITOMUOTO agonisti n	47	23	24	0,69
antagonisti n	54	29	25	
MUNASOLUJA/HENKILÖ mediaani (Q1, Q3)	10 (7,15)	9 (7,14)	12 (7,15)	0,31

3.1.2 Alkiolaadun ja munasolujen hedelmöittymisen vertailu NOA- ja OA-potilaiden ICSI-hoidoissa

ICSI-hoidoissa olleille naisille tehtiin yhdestä neljään munasolukeräystä (Taulukko 6). Keräysten (ICSI-hoitojen) määrällä/potilas ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta munasolujen hedelmöittymiseen ($p=0,70$), eikä alkiolaatuun ($p=0,31$). Hoitoja NOA-ryhmässä oli 82 ja OA-ryhmässä 81. Näistä hoidoista saatiin yhteensä 1692 kypsää munasolua. NOA-ryhmässä oli yhteensä 798 kypsää munasolua, joista hedelmöittyi 496 (62,2 %; 95-LV 58,7 %, 65,5 %). Kypsistä munasoluista kehittyi 88 hyvälaatuista alkiota (11 %; 95-LV 9,0 %, 13,4 %), 122 keskinkertaista alkiota (15,3 %; 95-LV 13,0 %, 18,0 %) ja 286 huonolaatuista alkiota (35,8 %; 95-LV 32,6 %, 39,2 %). Kypsistä munasoluista 37,8 % ei hedelmöittynyt (Kuva 4). OA-ryhmässä oli yhteensä 894 kypsää munasolua, joista hedelmöittyi 576 (64,4 %; 95-LV 61,2 %, 67,5 %). Kypsistä munasoluista kehittyi 59 hyvälaatuista alkiota (6,6 %; 95-LV 5,2 %, 8,4 %), 152 keskinkertaista alkiota (17,0 %; 95-LV 14,7 %, 19,6 %) ja 365 huonolaatuista alkiota (40,8 %; 95-LV 37,7 %, 44,1 %). Kypsistä munasoluista 35,6 % ei hedelmöittynyt (Kuva 4). Ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa hedelmöittämisessä ($p=0,29$) eikä alkionlaadussa ($p=0,74$).

Taulukko 6. Naisten taustatekijät kypsien munasolujen suhteen ryhmässä NOA (N = 798) ja ryhmässä OA (N = 894).

	KAIKKI (N=1692)	NOA (N=798)	OA (N=894)
NAISEN IKÄ mediaani (Q1, Q3)	32 (29,35)	32 (29,3)	31 (29,35)
BMI mediaani (Q1, Q3)	25 (22,30)	24 (22,2)	27 (22,31)
HOITOMUOTO agonisti n	700	340	360
antagonisti n	992	458	534
MUNASOLUJA/HENKILÖ mediaani (Q1, Q3)	13 (9,18)	12 (8,18)	14 (10,20)
Hoitokerta 1	1109	547	562
2	418	195	223
3–4	165	56	109



Kuva 4. OA- ja NOA-potilaiden alkioalaatu ja hedelmöityminen. Hoidettavia pareja OA-ryhmässä oli yhteensä 49 ja heille tehtyjä hoitoja 80. NOA-ryhmässä hoidettavia pareja oli 54 ja heille tehtyjä hoitoja 82.

3.1.3 Synnytykseen johtaneiden alkioden laatu

Tutkimuksessa tarkasteltiin synnytykseen johtaneiden alkioden alkioalaatua NOA- ja OA-potilaiden ICSI-hoidoissa. NOA-potilaiden puolisoilla synnytyksiä oli yhteensä 42 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 48 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkioista, 38 % keskinkertaisesta alkioista ja 14 % huonolaatuisesta alkioista. OA-potilaiden puolisoilla synnytyksiä oli yhteensä 38 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 34 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkioista, 55 % keskinkertaisesta alkioista ja 11 % huonolaatuisesta alkioista. Koska alkioden määrä oli pieni, ei tuloksista voitu luotettavasti tehdä tilastollista analyysiä.

3.2 Alkiolaadun vertailu NOA-diagnoosiryhmien välillä

3.2.1 Diagnoosiryhmien taustamuuttujat

NOA-diagnoosiryhmiä vertailtiin naisen taustatekijöiden; hoidoista saatuja kypsien munasolujen määrän, hoidettavan naisen iän, painoindeksin sekä hoitomuodon suhteen (Taulukko 7). Diagnoosiryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa kypsien munasolujen, hoidettavan naisen iän eikä hoitomuodon suhteen. Painoindeksissä oli tilastollisesti merkitsevä ero diagnoosiryhmissä ($p=0,002$). Diagnoosiryhmä Klinefelterin naisten painoindeksi oli tilastollisesti suurempi kuin Idiopaattinen-ryhmän naisten painoindeksi ($p=0,01$) ja AZFc-ryhmän naisten painoindeksi ($p=0,02$).

Taulukko 7. Naisen taustatekijöiden vertailu diagnoosiryhmien suhteen.

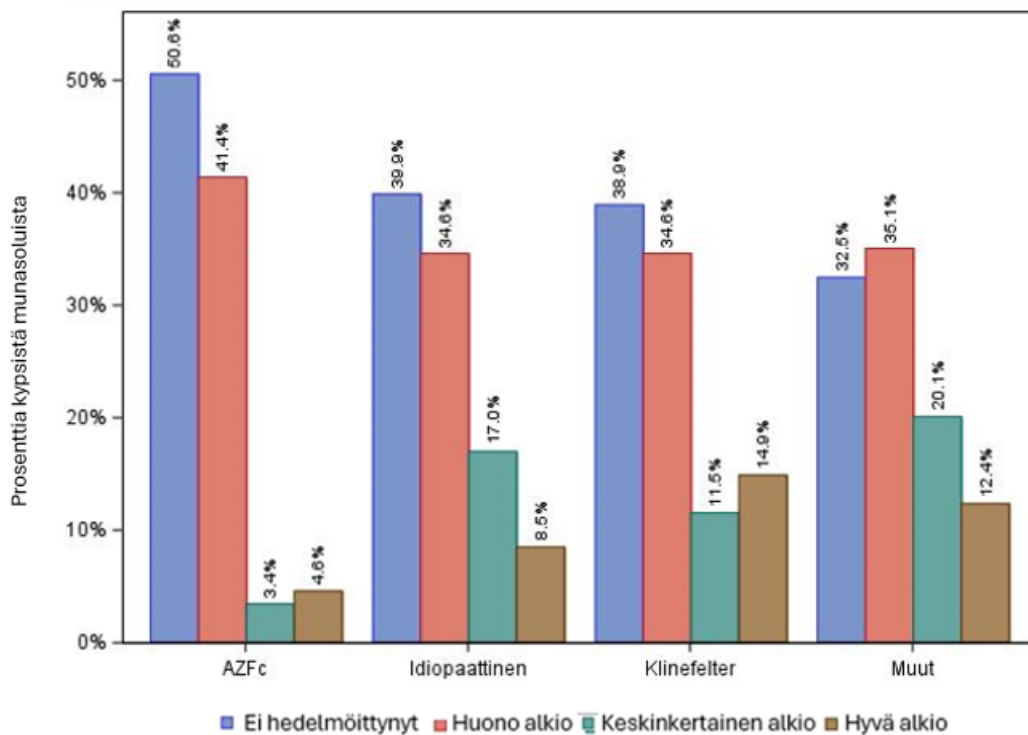
	KAIKKI	AZFc (N=4)	Klinefelter (N=11)	Idiopaattinen (N=22)	Muut (N=15)	P-arvo
NAISEN IKÄ mediaani (Q1, Q3)	32 (28, 35)	29 (25, 33)	30 (27, 32)	33 (30, 34)	34 (30, 37)	0,06
BMI mediaani (Q1, Q3)	26 (22, 28)	21,5 (21,22)	31 (27,32)	24 (22, 27)	26 (24, 29)	0,002*
HOITO agonisti n	23	2	3	10	8	0,62
antagonisti n	29	2	8	12	7	
MUNASOLU/HENKILÖ mediaani (Q1, Q3)	9 (7, 15)	13 (10, 15)	7 (6, 15)	8 (7, 13)	10 (7,16)	0,65

3.2.2 Munasolujen hedelmöittymisen ja alkiolaadun vertailu diagnoosiryhmien välillä

ICSI-hoidoissa olleille naisille tehtiin yhdestä kolmeen munasolukeräystä (hoitoa) (Taulukko 8). Hoitojen määrällä/potilas ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta munasolujen hedelmöittymiseen ($p=0,57$), eikä alkiolaatuun ($p=0,90$). Hoitoja AZFc-ryhmässä oli 8, Klinefelter-ryhmässä 19, Idiopaattinen ryhmässä 34 ja Muut-ryhmässä 20. Näistä hoidoista saatiin yhteensä 1692 kypsää munasolua. AZFc-ryhmässä oli yhteensä 87 kypsää munasolua, joista hedelmöittyi 43 (49,4 %; 95-LV 39,2 %, 59,7 %). Kypsistä munasoluista kehittyi hyvälaatuisia alkioita 4 (4,6 %; 95-LV 1,8 %, 11,2 %), keskinkertaisia alkioita 3 (3,4 %; 95-LV 1,2 %, 9,7 %) ja huonolaatuisia alkioita 36 (41,4 %; 95-LV 31,6 %, 51,9 %). 50,6 % kypsistä munasoluista ei hedelmöittynyt tässä ryhmässä (Kuva 5). Klinefelter-ryhmässä oli yhteensä 208 kypsää munasolua, joista hedelmöittyi 127 (61,1 %; 95-LV 54,3 %, 67,4 %). Kypsistä munasoluista kehittyi hyvälaatuisia alkioita 31 (14,9 %; 95-LV 10,7 %, 20,4 %), keskinkertaisia alkioita 24 (11,5 %; 95-LV 7,9 %, 16,6 %) ja huonolaatuisia alkioita 72 (34,6 %; 95-LV 28,5 %, 41,3 %). 38,9 % kypsistä munasoluista ei hedelmöittynyt (Kuva 5). Idiopaattiset-ryhmässä oli yhteensä 341 kypsää munasolua, joista hedelmöittyi 205 (60,1 %; 95-LV 54,8 %, 65,2 %). Hyvälaatuisia alkioita kypsistä munasoluista kehittyi 29 (8,5 %; 95-LV 6,0 %, 11,9 %), keskinkertaisia alkioita 58 (17 %; 95-LV 13,4 %, 21,4 %) ja huonolaatuisia alkioita 118 (34,6 %; 95-LV 29,8 %, 39,8 %). 39,9 % kypsistä munasoluista ei hedelmöittynyt (Kuva 5). Muut-ryhmässä oli yhteensä 194 kypsää munasolua, joista hedelmöittyi 131 (67,5 %; 95-LV 60,7 %, 73,7 %). Hyvälaatuisia alkioita kypsistä munasoluista kehittyi 24 (12,4 %; 95-LV 8,5 %, 17,7 %), keskinkertaisia alkioita 39 (20,1 %; 95-LV 15,1 %, 26,3 %) ja huonolaatuisia alkioita 68 (35,1 %; 95-LV 28,7 %, 42,0 %) 32,5 % kypsistä munasoluista ei hedelmöittynyt (Kuva 5). Diagnoosiryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa hedelmöittämisessä ($p=0,17$) eikä alkiolaadussa ($p=0,74$).

Taulukko 8. Naisten taustatekijät kypsien munasolujen suhteen diagnoosiryhmässä.

	KAIKKI (N=830)	AZFc (N=87)	Klinefelter (N=208)	Idiopaattinen (N=341)	Muut (N=194)
NAISEN IKÄ mediaani (Q1, Q3)	32 (29, 35)	30 (28, 31)	30 (28, 32)	33 (30, 34)	34 (33, 37)
BMI mediaani (Q1, Q3)	23 (22, 27)	21 (20, 22)	27 (23, 31)	23 (21, 27)	26 (24, 27)
HOITO agonisti	354	47	30	164	113
antagonisti	476	40	178	177	81
Hoitokerta 1	596	50	163	223	160
2	186	25	41	90	30
3	48	12	4	28	4
MUNASOLUJA/HENKILÖ mediaani (Q1, Q3)	12 (7, 18)	12 (12, 14)	18 (10, 22)	9 (7, 18)	12 (9, 18)



Kuva 5. NOA-potilaan diagnoosin vaikutus munasolujen hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun. AZFc-ryhmässä potilaita oli yhteensä 4 ja hoitoja 8. Idiopaattinen-ryhmässä potilaita oli 22 ja hoitoja 35, Klinefelter-ryhmässä potilaita oli 13 ja hoitoja 19 ja Muut-ryhmässä potilaita oli 15 ja hoitoja 20.

3.2.3 Synnytykseen johtaneiden alkioden laatu NOA-diagnoosiryhmien välillä

Tutkimuksessa tarkasteltiin synnytykseen johtaneiden alkioden alkiolaatua NOA-diagnoosiryhmien välillä. Y-deleetio-ryhmässä synnytyksiä oli yhteensä 2 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 50 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkiodesta ja 50 % keskinkertaisesta alkiodesta. Klinefelter-ryhmässä synnytyksiä oli yhteensä 7 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 29 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkiodesta, 57 % keskinkertaisesta alkiodesta ja 14 % huonolaatuisesta alkiodesta. Idiopaattisten ryhmässä synnytyksiä oli yhteensä 10 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 50 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkiodesta, 40 % keskinkertaisesta alkiodesta ja 10 % huonolaatuisesta alkiodesta. Muut-ryhmässä synnytyksiä oli yhteensä 12 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 75 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkiodesta, 8 % keskinkertaisesta alkiodesta ja 17 % huonolaatuisesta alkiodesta. Koska alkioden määrä oli pieni, ei tuloksista voitu luotettavasti tehdä tilastollista analyysiä.

3.3 NOA-potilaan ICSI-hoidon vaativuuden vaikutus munasolujen hedelmöittymiseen ja alkioalaatuun

3.3.1 Vaativien ja helppojen ICSI-hoitojen taustatekijät

Vaativia ja helppoja NOA-potilaiden ICSI-hoitoja vertailtiin naisen taustatekijöiden; hoidoista saatuja kypsien munasolujen määrän, hoidettavan naisen iän, painoindeksin sekä hoitomuodon suhteen (Taulukko 9). Ryhmien välillä ei näiden taustatekijöiden suhteen ollut tilastollisesti merkitsevää eroa.

Taulukko 9. Naisen taustatekijöiden vertailu ICSI-hoitojen suhteen.

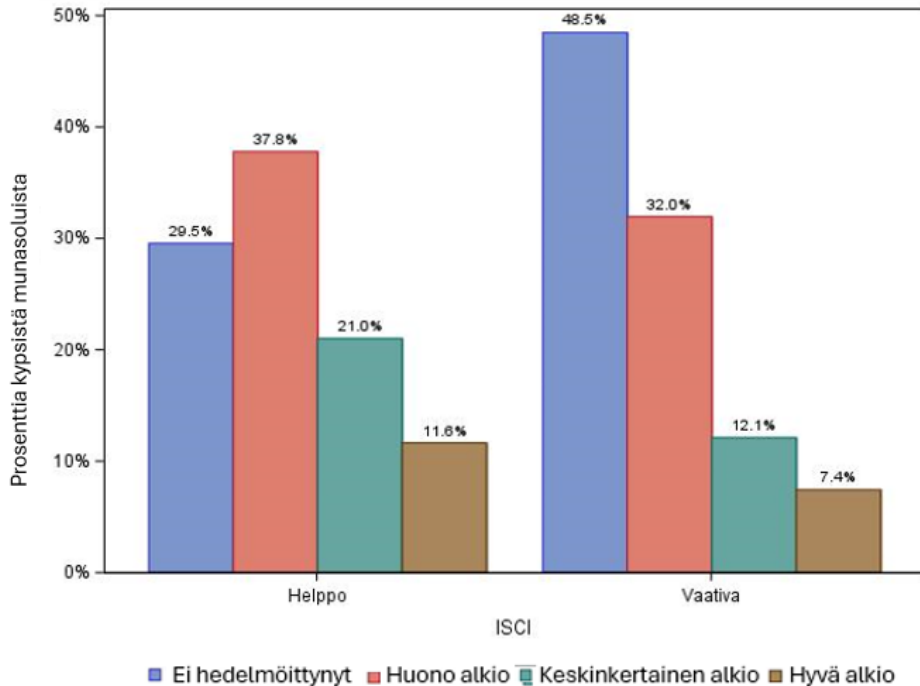
	KAIKKI	HELPPO	VAATIVA	P-ARVO
NAISEN IKÄ keskiarvo (keskihajonta)	32 (4,4)	33 (4,1)	31 (4,7)	0,50
BMI mediaani (Q1, Q3)	26 (22, 28)	26 (24, 31)	25 (22, 27)	0,13
HOITOMUOTO agonisti n	23	12	11	1,00
antagonisti n	26	13	13	
MUNASOLUJA/HENKILÖ mediaani (Q1, Q3)	9 (7, 15)	9 (7, 16)	8 (7, 12)	0,44

3.3.2 Munasolujen hedelmöittymisen ja alkioalaadun vertailu helppojen ja vaativien MD-TESE-ICSI -hoitojen välillä

MD-TESE-ICSI -hoidoissa olleille naisille tehtiin yhdestä kolmeen munasolukeräystä (hoitoa) (Taulukko 10). Hoitojen määrällä/potilas ei ollut tilastollisesti merkitsevää vaikutusta munasolujen hedelmöittymiseen ($p=0,44$), eikä alkioalaatuun ($p=0,87$). Hoitoja Helppo MD-TESE-ICSI -ryhmässä oli 25 ja Vaativa MD-TESE-ICSI -ryhmässä 24. Näistä hoidoista saatiin yhteensä 715 kypsää munasolua. Helpossa MD-TESE-ICSI -ryhmässä kypsiä munasoluja saatiin 352, joista hedelmöittyi 248 (70,5 %; 95-LV 65,5 %, 75,0 %). Hyvälaatuisia alkioita oli 41 (11,6 %; 95-LV 8,7 %, 15,4 %), keskinkertaisia alkioita 74 (21,0 %; 95-LV 17,1 %, 25,6 %) ja huonolaatuisia alkioita 133 (37,8 %; 95-LV 32,9 %, 43,0 %). Kypsistä munasoluista 29,5 % ei hedelmöittynyt (Kuva 6). Vaativa MD-TESE-ICSI -ryhmässä kypsiä munasoluja saatiin 363, joista hedelmöittyi 187 (51,5 %; 95-LV 46,4 %, 56,6 %). Hyvälaatuisia alkioita oli 27 (7,4 %; 95-LV 5,2 %, 10,6 %), keskinkertaisia alkioita 44 (12,1 %; 95-LV 9,2 %, 15,9 %) ja huonolaatuisia alkioita 116 (32,0 %; 95-LV 27,4 %, 36,9 %). Kypsistä munasoluista 48,5 % ei hedelmöittynyt (Kuva 6). Helpossa MD-TESE-ICSI:ssä munasolujen hedelmöittymisprosentti oli korkeampi kuin vaativissa TESE-ICSEissä (helppo vs. vaativa OR 2,844 95-LV 1,574-5,139) ($p = 0,0006$). Myös alkioalaatu oli helpoissa MD-TESE-ICSEissä parempi (helppo vs. vaativa OR 2,487; 95-LV 1,462-4,231) ($p = 0,0008$).

Taulukko 10. Naisten taustatekijät kypsien munasolujen suhteen ICSI-hoidoissa.

	KAIKKI (N=715)	HELPPO (N=352)	VAATIVA (N=363)
NAISEN IKÄ mediaani (Q1, Q3)	32 (29,35)	33 (31,37)	31 (28,34)
BMI mediaani (Q1, Q3)	23 (22,27)	27 (24,31)	22 (20,27)
HOITOMUOTO agonisti (n)	354	143	211
antagonisti (n)	361	209	152
Hoitokerta 1	499	268	231
2	168	73	95
3	48	11	37
MUNASOLUJA/HENKILÖ mediaani (Q1, Q3)	12 (7,18)	12 (8,18)	9 (7,14)



Kuva 6 MD-TESE-ICSI:n vaativuuden vaikutus munasolujen hedelmöitymiseen ja alkioalaatuun. Helppoissa ICSI-hoidoissa hedelmöityi tilastollisesti enemmän munasoluja ($p=0,0006$) ja alkioalaatu oli helppoissa hoidoissa parempi kuin vaativissa ($p=0,0008$). Helppoja MD-TESE-ICSEjä oli 39 kpl ja vaativia MD-TESE-ICSEjä 42 kpl.

3.3.3 Synnytykseen johtaneiden alkioden laatu vaativissa ja helppoissa MD-TESE-ICSI-hoidoissa

Tutkimuksessa verrattiin synnytykseen johtaneiden alkioden alkioalaatua helppojen ja vaativien MD-TESE-ICSI -hoitojen välillä. Helppoissa MD-TESE-ICSI -hoidoissa synnytyksiä oli yhteensä 22 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 50 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkioista, 36 % keskinkertaisesta alkioista ja 14 % huonolaatuisesta alkioista. Vaativista ICSI-hoidoista synnytyksiä oli yhteensä 21 kpl. Synnytykseen johtaneista raskauksista 48 % oli saanut alkunsa hyvälaatuisesta alkioista, 38 % keskinkertaisesta alkioista ja 14 % huonolaatuisesta alkioista. Koska alkioden määrä oli pieni, ei tuloksista voitu luotettavasti tehdä tilastollista analyysiä.

4. TULOSTEN TARKASTELU

4.1. Alkiolaatu NOA-potilaiden ICSI-hoidoissa.

MD-TESE-siittiöillä toteutettu hedelmöityshoito on tehokas ja turvallinen tapa hoitaa miehen vaikeaa NOA:sta johtuvaa hedelmättömyyttä. Kyseisellä menetelmällä aikaan saaduista alkioidista on tähän mennessä kuitenkin vähän tutkimustietoa ja saatu tieto on ristiriitaista. Työn tarkoituksena oli tutkia, miten atsoospermian taustalla olevat syyt vaikuttavat alkioiden laatuun. Tutkimuksessa oli kaksi ryhmää, NOA-potilaat, joiden spermatogeneesi on vakavasti häiriintynyt sekä OA-potilaat, joiden spermatogeneesi on normaali. NOA- ja OA-ryhmien välillä ei havaittu olevan tilastollisesti merkitsevää eroa munasolujen hedelmöitymisessä (hedelmöitymisprosentti NOA 62,8 % vs. OA 64,4 %) eikä alkiolaadussa (hyvät ja keskinkertaiset alkiot yhteensä NOA 26,3 % vs. OA 23,6 %). Myös Zaninovic & Schlegel (2013) havaitsivat alkiokkehityksen olevan samanlainen sekä NOA- että OA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa. Tässä tutkimuksessa NOA-ryhmässä alkionlaatu oli jopa hieman parempi kuin OA-ryhmässä, vaikka tilastollista merkitsevyyttä ei havaittu. Aikaisemmissa tutkimuksissa on kuitenkin todettu myös päinvastaisia tuloksia. Solujen tiivistymisen morulaksi sekä blastokystien muodostumisen ja laajentumisen on todettu merkittävästi alentuneen NOA-potilaiden hoidoista saaduissa alkioidissa verrattuna OA-potilaiden hoidoista saatuihin alkioidiin (Desai ym. 2018). Yalcin ym. (2017) totesivat munasolujen hedelmöitymisen ja raskausluvun olevan alhaisempi NOA-potilaiden siittiöillä tehdyissä hoidoissa verrattuna OA-potilaiden siittiöillä tehtyihin hoitoihin. Hedelmöitymisprosentti ja implantaatioaste olivat merkitsevästi alhaisemmat NOA-potilaiden hoidoissa kuin OA-potilaiden hoidoissa, mutta elävänä syntyvyys oli molemmissa ryhmissä sama (Vahidi ym. 2021; Nicopoullos, 2004). Tämän tutkimuksen tulokset tukevat Zaninovicin ja Schlegelin (2013) havaintoja NOA- ja OA-potilaiden siittiöillä aikaan saatujen alkioiden kehityksestä, mutta ovat ristiriitaiset Desain (2018) ja Yalcinin (2017) havaintojen kanssa.

Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin myös synnytykseen johtaneiden alkioiden alkiolaatua NOA- ja OA-ryhmien välillä. Koska alkioiden määrä oli pieni, ei tuloksista voitu luotettavasti tehdä tilastollista analyysiä. Näyttää siltä, että synnytykseen johtaneissa alkionsiirroissa alkiolaatu oli samankaltainen molemmissa ryhmissä ja suurin osa synnytykseen johtaneista alkioidista oli laadultaan hyviä tai keskinkertaisia. Samasta aineistosta tehdyssä tutkimuksessa kliininen raskausluku ei eronnut merkitsevästi NOA- ja OA-ryhmien välillä (Klami, 2024). Vastaavaan tulokseen päätyivät myös Yalcin ym. (2017) sekä Nicopoullos ym. (2004). Varhaista siittiövaikutusta alkiolaatuun on mahdollista arvioida tsygoottimorfologialla ja varhaisalkion blastomeerien ja-

kautumisnopeudella (Bashiri ym. 2021). Varhaisalkionkehitystä tutkittiin seuraamalla blastomeerien jakautumisnopeutta, fragmentoitumista, solusymmetriaa ja tumastatusta. Näiden tiedetään korreloivan alkion myöhempään kehitykseen sekä aneuploidiaan. Alkioiden morfokineettistä kehitystä seuraamalla voidaan arvioida kunkin alkion kehityspotentiaalia ja valita hyvä alkio alkionsiirtoon. Loput alkiot, joiden ennustetaan tuottavan raskaus, pakastetaan myöhemmää käyttöä varten. Näin hoidoista saadaan mahdollisimman tehokkaita, mikä on tärkeää sekä potilaalle että hoitavalle yksikölle. Morfokineettinen alkionkehityksen seuraaminen on usein ainoa vaihtoehto alkiolaadun tutkimiseen, sillä tarkempaa alkiodiagnostiikkaa PGT-A:ta (Preimplantation testing for aneuploidy), jolla pyritään seulomaan aneuploidiaa alkiosta otetuista soluista, tehdään julkisessa terveydenhoidossa vain, jos tiedetään, että vanhemmat ovat vaikean periytyvän sairauden kantajia tai tätä on syytä epäillä. Havaintojemme perusteella voidaan todeta, että morfologisesti hyvän ja tietyllä nopeudella kehittyvän NOA-potilaan alkion kyky tuottaa normaali raskaus ei näyttäisi eroavan perinteisellä ICSI-menetelmällä aikaan saadusta alkiosta. Tämän tutkimuksen perusteella NOA-potilaille ei ole ensisijaisesti syytä suosittelaa lahjasiittiöhoitoa, jos omia siittiöitä löydetään MD-TESE-menetelmällä.

4.2 NOA-potilaan taustadiagnoosin vaikutus alkiolaatuun

Tutkimushypoteesini oli, että NOA-potilaan taustadiagnoosilla saattaa olla vaikutusta munasolun hedelmöittymiseen ja alkiolaatuun. Tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu diagnoosiryhmien välillä tilastollisesti merkitsevää eroa munasolujen hedelmöittämisessä eikä alkiolaadussa. Vaikka diagnoosien välillä ei tilastollisesti nähdä merkitsevyyttä alkiolaadussa, oli Y-deleetio AZFc ryhmän munasolujen hedelmöittyminen sekä alkiolaatu selvästi huonompi kuin muissa ryhmissä (hedelmöittymisprosentti 49 % ja hyvien sekä keskinkertaisten alkioiden määrä 8 %). Se, että tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevää, saattaa selittyä sillä, että Y-deleetiopotilaita oli vähän. Aikaisemmissa tutkimuksissa Y-kromosomin mikrodeleetio AZFc:n on raportoitu ennustavan alhaisempaa hedelmöityslukua kuin muilla NOA-potilailla (Yamaguchi ym. 2020). Alkioiden lisääntyneen aneuploidian sekä merkitsevästi heikentyneen alkion kehittymisen blastokystiksi on todettu liittyvän AZFc-deleetioon (Mateu ym. 2010). Y-deleetion tiedetään vaikuttavan haitallisesti ICSI-tulokseen ja sen on todettu huonontavan kliinisen raskauden ja elävänä syntyvyyden todennäköisyyttä (Zhang ym. 2021). Johtopäätöksenä voidaan todeta, että vaikka hoidon ennuste Y-deleetiopotilailla on huonompi, huolellisesti toteutettu hoito voi silti johtaa synnytykseen. Tässä potilasryhmässä potilasneuvonnan tärkeys korostuu. Hoi-

deettavaa paria olisi valmisteltava tiedolla, että hoito ei välttämättä johda toivottuun lopputulokseen, jolloin hoidettava voisi varautua lahjasiittiöiden käyttöön. Myös tieto Y-delektion periytymisestä poikalapselle voi auttaa hoitoa saavaa paria tekemään päätöksen lahjasiittiöiden käytöstä, vaikka omia siittiöitä olisikin käytettävissä. Delektion periytyminen olisi estettävissä alkion sukupuolen valinnalla, mutta ainakaan toistaiseksi Y-delektion periytymistä ei ole Suomessa hyväksytty sukupuolen valinnan kriteeriksi.

Klinefelter-potilailta löydetään siittiöitä MD-TESE-menetelmällä noin 50–70 %:ssa tapauksista (Klami ym. 2018). Tämän tutkimuksen aineistossa Klinefelter-ryhmässä munasolujen hedelmöittymisprosentti oli 61. Aikaisemmissa tutkimuksissa munasolujen hedelmöittymisprosentti on ollut samanlainen (Schiff ym. 2005; Madureira ym. 2014). Tässä ryhmässä 26 % kypsistä munasoluista kehittyi hyväksi tai keskinkertaisiksi alkioiksi. Noin 70 % NOA-potilaista jää ilman syytä atsoospermialle. Koska näiden potilaiden atsoospermian syitä ei tunneta, voivat ne olla hyvinkin erilaisia. Idiopaattisilta NOA-potilailta löydetään MD-TESE -menetelmällä siittiöitä vain noin 30–40 %:ssa tapauksista, eli kaikkein vähiten NOA:n ryhmistä (Achermann ym. 2021; Chen ym. 2019). Munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu oli tässä ryhmässä samankaltainen kuin Klinefelter-ryhmässä.

Muut-ryhmässä (piilokives, anabolisten steroidien käyttö, aikaisempi sytostaattihoito sekä eräs harvinainen syndrooma) munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu oli hieman parempi kuin Klinefelter- ja idiopaattinen-ryhmissä (hyviä ja keskinkertaisia alkioita yhteensä 32 %), mutta vailla tilastollista merkitsevyyttä. Tulos on samankaltainen kuin aikaisemmissa tutkimuksissa, joissa piilokiveksisillä on todettu hieman parempi alkiolaatu kuin idiopaattisessa NOA:ssa (Ishikawa ym. 2022). Solusalpaajahoitojen jälkeen munasolujen hedelmöittymisen ja alkiokehityksen on raportoitu olevan parempi kuin idiopaattisessa NOA:ssa (Ishikawa ym. 2018).

Tutkimuksessa tarkasteltiin myös, minkä laatuiset alkiot johtivat synnytykseen ja oliko alkioiden laatu synnytykseen johtaneissa raskauksissa erilainen NOA-potilaan taustadiagnoosista riippuen. AZFc-ryhmässä alkioita saatiin yhteensä 43. Kaksi näistä alkioista (1 hyvälaatuinen ja 1 keskinkertainen) johti synnytykseen. Klinefelter-ryhmässä alkioita saatiin yhteensä 127. Seitsemän (2 hyvälaatuista, 4 keskinkertaista ja 1 huonolaatuinen) alkioita johti synnytykseen. Idiopaattinen-ryhmässä alkioiden määrä oli 184 ja näistä alkioista 10 (5 hyvälaatuista, 4 keskinkertaista ja 1 huonolaatuinen) johti synnytykseen. Muut-ryhmässä alkioita oli 142, joista synnytykseen johti 12 (9 hyvälaatuista, 1 keskinkertaista ja 2 huonolaatuista) alkioita. Koska

synnytykseen johtaneiden alkioden määrä oli pieni, ei tuloksista voitu luotettavasti tehdä tilastollista analyysiä. Kaikista ryhmistä kuitenkin saatiin aikaan alkioita, jotka tuottivat toivotun synnytyksen. Suurin osa synnytykseen johtaneista alkioista kaikissa diagnoosiryhmissä oli hyviä tai keskinkertaisia. Alkioden laadusta tehtyjen havaintojen perusteella voidaan päätellä, että hyvälaatuisen alkion kyky tuottaa raskaus on hyvä taustadiagnoosista riippumatta.

4.3 Siittiöiden valinnan merkitys mikrohedelmöityksessä

MD-TESE-menetelmällä on mahdollista löytää siittiöitä potilailta, joiden siittiötuotanto on vakavasti häiriintynyt. Tällöin talteen saadaan vain yksittäisiä, usein morfologialtaan hyvin huonoja siittiöitä, eikä hedelmöitykseen käytettäviä siittiöitä päästä valitsemaan. Siittiöiden valinta perinteisessä ICSI:ssä perustuu siittiöiden liikkuvuuteen sekä morfologisesti hyvän siittiön valintaan (Verheyen ym. 2017). Tässä tutkimuksessa havaittiin, että kun päästiin valitsemaan morfologialtaan hyvä siittiö, oli munasolujen hedelmöittyminen sekä alkioalaatu parempi. Myös Aboukhshaba ym. (2022) havaitsivat, että parempaan munasolujen hedelmöittymiseen ja kliiniseen raskauslukuun johti mikroinjektio, jossa siittiöllä oli normaali akrosomiosa. Epänormaali akrosomi ei kuitenkaan poissulkenut hedelmöittymistä tai kliinistä raskautta. Epänormaalilla pään, kaulan tai hännän morfologialla ei ollut merkitsevää vaikutusta hedelmöittymiseen tai kliiniseen raskauteen. Lyhythäntäisellä siittiöllä injektointiin liittyi kuitenkin huonompi hedelmöittyminen kuin normaalihäntäisellä siittiöllä tehtyyn injektioon (Aboukhshaba ym. 2022).

Tutkimuksessa tarkasteltiin myös synnytykseen johtaneiden alkioden alkioalaatua helppojen ja vaativien ICSI-hoitojen välillä. Koska alkioden määrä oli pieni, ei tuloksista voitu luotettavasti tehdä tilastollista analyysiä. Vaikka vaativa ja helppo ICSI-ryhmien välillä oli tilastollisesti merkitsevä ero munasolujen hedelmöitymisessä ja alkioalaadussa, näyttää siltä, että synnytykseen johtaneissa alkionsirroissa alkioalaatu oli samankaltainen molemmissa ryhmissä ja molemmissa ryhmissä oli saman verran synnytyksiä. Non-obstruktiivisesta atsoospermiasta kärsivien miesten siittiöissä on havaittu normaalia enemmän aneuploidioita (Gianaroli ym. 2005b; Sun ym. 2008). Vaikka vaativassa mikrohedelmöityksessä ei siittiöitä päästä valitsemaan morfologian perusteella, oli tutkimuksessa terveiden syntyneiden lasten määrä silti samankaltainen. Tämä havainto ei tue aikaisempia havaintoja morfologian yhteydestä aneuploidiaan ja sen merkityksestä siittiön kykyyn tuottaa elinkelpoinen alkio.

4.4 Johtopäätökset ja tulevaisuus miehen vaikean lapsettomuuden hoidossa

Miesten hedelmättömyys on maailmanlaajuinen terveysongelma, jolla on merkittäviä kustannus- sekä psykologisia vaikutuksia (Vander Borgh & Wyns 2018). Useat tutkimukset ovat osoittaneet miesten hedelmällisyyden heikkenemistä länsimaissa. Iän, elintapojen ja ympäristötekijöiden on osoitettu vaikuttavan siittiötuotantoon. Miehen huonontuneen yleisen terveydentilan on osoitettu heikentävän miehen lisääntymisterveyttä; siittiömäärä ja testosteronitaso on usein alentunut ja follikkelia stimuloivan hormonin pitoisuus on kohonnut (Ventimiglia ym. 2015). Siemennesteen tilavuuden, siittiöiden liikkuvuuden ja siittiömorfologian on todettu huononevan miehen ikääntyessä. Myös siittiöiden DNA-fragmentaation on osoitettu lisääntyvän (Evenson ym. 2020). Siittiöiden määrän on kuitenkin osoitettu pysyvän melko samana ikääntymisestä huolimatta (Johnson ym. 2015). Lisäksi erilaisten ympäristötekijöiden tiedetään olevan syynä heikentyneeseen spermanlaatuun joko suoraan tai epigeneettisten mekanismien kautta (Skakkebaek ym. 2016).

Spermatogeneesiin on todettu vaikuttavan vähintään 2000 geeniä. Sukupuolikromosomien poikkeavuuksilla on suuri merkitys vakavissa spermatogeneesin vaurioissa. Autosomeissa olevat geenimutaatiot liittyvät pääasiassa hypogonadismiin, teratozoospermiaan tai astenozoospermiaan, synnynnäiseen obstruktiiviseen atsoospermiaan sekä suvussa esiintyviin kvantitatiivisiin spermatogeneesin häiriöihin. Vaikka hedelmättömyyden syitä on tutkittu paljon, silti noin 40 % hedelmättömyyden syistä on vielä tuntemattomia (Krausz & Riera-Escamilla 2018). Koko genomien tutkimukset ovat lupaavimpia keinoja löytää geneettistä tietoa miehen vaikeasta lapsettomuudesta, jotta voidaan välttää turhia kirurgisia ja lääketieteellisiä hoitoja. Suurin osa, noin 70 %, NOA:n syistä on tuntemattomia, ja on olemassa riski siirtää geneettisiä poikkeavuuksia jälkeläisille. Tämän takia geneettisten tekijöiden löytyminen olisi tärkeää. Vaikka kiveskudos-siittiöillä tehdyistä hedelmöityshoidoista syntyneet lapset ovat yhtä terveitä kuin muista koeputkihoidoista syntyneet lapset, tarvitaan näiden lasten pitkäaikaisseurantaa.

Tämän tutkimuksen tulosten perusteella voidaan todeta, että munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu eivät eroa toisistaan NOA- ja OA-ryhmissä, vaikka NOA-potilaiden spermatogeneesi on usein vaikeasti häiriintynyt. Myöskään NOA-potilaan diagnoosilla ei ole vaikutusta munasolujen hedelmöitymiseen tai alkiolaatuun, joten millekään yksittäiselle ryhmälle ei ole syytä suositella ensisijaisesti lahjasiittiöiden käyttöä, jos omia siittiöitä löydetään MD-TESE:n avulla. Koska NOA-potilaiden spermatogeneesi on vaikeasti häiriintynyt, löydetään MD-TESE:n avulla usein vain muutamia siittiöitä hedelmöitykseen. Noin puolet tutkimusaineiston

MD-TESE-ICSI -hoidoista oli näitä, niin sanottuja vaativia ICSI-hoitoja. Näissä vaativissa hoidoissa munasolujen hedelmöittyminen ja alkiolaatu oli tilastollisesti huonompi kuin niissä hoidoissa, joissa siittiöitä oli niin paljon, että niistä voitiin valita morfologialtaan parhaat siittiöt mikrohedelmöitykseen. Vaikeaa miehen hedelmättömyyttä hoitamaan tarvitaan kokeneita andrologeja ja embryologeja. Suomen kokoisessa maassa kyseisten hoitojen keskittämistä yhteen klinikkaan tulisi harkita. Lapsettomuus aiheuttaa potilaille huomattavaa psyykkistä ja sosiaalista kuormitusta ja taloudellisen taakan sekä potilaille että terveydenhuoltojärjestelmälle. Varhainen diagnoosi ja asianmukainen hoito ovat tärkeitä hoidettaessa miehen vaikeaa lapsettomuutta. Hoitotuloksiin vaikuttavien tekijöiden ymmärtäminen auttaa ennustamaan hoidon onnistumisen todennäköisyyttä sekä auttaa neuvomaan potilaita paremmin.

KIITOKSET

Kiitän kaikkia Pro gradu -työni ohjaajia, Turun yliopiston eläinfysiologian professoria, Katja Anttilaa, Tyksin lisääntymislääketieteen yksikön erikoislääkäreitä, LT Rauni Klamia ja LT, Dos. Antti Perheentupaa sekä IVF-biologi, FT Harri Mankosta. Kiitos Katja lempeistä neuvoista ja avusta. Kiitos Rauni ja Antti gradu-aiheen suunnittelusta ja lääketieteellisistä neuvoista sekä opiskeluinspiraatiosta. Teidän kanssanne on aina ilo tehdä töitä. Iso kiitos biostatistikko, FM Jenni Palanderille. Olit korvaamaton apu tilasto-osion suunnittelussa ja toteuttamisessa. Haluan kiittää myös omia rakkaita tyttäriäni Oliviaa, Linneaa ja Elleniä. Olette jaksaneet pitää huolta itsestänne, omista koulutöistänne ja välillä äidistännekin tämän prosessin aikana. Ja lopuksi aivan erityiset kiitokset Harrille mentoroinnista, tuesta, kannustuksesta ja kannattelusta. Ne auttoivat minua jaksamaan ja ylläpitämään innostusta opintoihini työn ja muun arjen keskellä.

LÄHTEET

Abdullah L, & Bondagji N. (2011). Histopathological patterns of testicular biopsy in male infertility: A retrospective study from a tertiary care center in the western part of Saudi Arabia. *Urology Annals*, 3(1), 19-23.

Aboukhshaba A, Punjani N, Doukakis S, Zaninovic N, Palermo G & Schlegel P.N. (2022). Testicular sperm characteristics in men with nonobstructive azoospermia and their impact on intracytoplasmic sperm injection outcome. *Fertility and Sterility*, 117(3), 522–527.

Achermann A.P.P, Pereira T.A, & Esteves S.C. (2021). Microdissection testicular sperm extraction (micro-TESE) in men with infertility due to nonobstructive azoospermia: summary of current literature. *International Urology and Nephrology*, 53(11), 2193–2210.

Aydin T, Sofikerim M, Yucel B, Karadag M & Tokat F. (2015). Effects of testicular histopathology on sperm retrieval rates and ICSI results in non-obstructive azoospermia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 35(8), 829–831.

Bachir B.G & Jarvi K. (2014). Infectious, Inflammatory, and Immunologic Conditions Resulting in Male Infertility. *Urologic Clinics of North America*, 41(1), 67–81.

Bashiri Z, Amidi F, Amiri I, Zandieh Z, Maki C.B, Mohammadi F, Amiri S, & Koruji M. (2021). Male Factors: the Role of Sperm in Preimplantation Embryo Quality. *Reproductive Sciences*, 28(7), 1788–1811.

Bernie A.M, Mata D.A, Ramasamy R & Schlegel P.N. (2015). Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 104(5), 1099–1103.

Bernie A.M, Ramasamy R, & Schlegel P.N. (2013). Predictive factors of successful microdissection testicular sperm extraction. *Basic and Clinical Andrology*, 23(1), 5.

Björndahl L & Kirkman Brown J. (2022). The sixth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: ensuring quality and standardization in basic examination of human ejaculates. *Fertility and Sterility*, 117(2), 246–251.

Bocca S, Moussavi V, Brugh V, Morshedi M, Stadtmauer L, & Oehninger S. (2017). ICSI outcomes in men undergoing TESE for azoospermia and impact of maternal age. *Andrologia*, 49(2), e12617.

Bonde J.P.E, Ernst E, Jensen T.K, Hjollund N.H.I, Kolstad H, Scheike T, Giwercman A, Skakkebaek N.E, Henriksen T.B & Olsen J. (1998). Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. *The Lancet*, 352(9135), 1172–1177.

Chen X, Ma Y, Zou S, Wang S, Qiu J, Xiao Q, Zhou L & Ping P. (2019). Comparison and outcomes of nonobstructive azoospermia patients with different etiology undergoing Micro-TESE and ICSI treatments. *Translational Andrology and Urology*, 8(4), 366–373.

Chiba K, Enatsu N, & Fujisawa M. (2016). Management of non-obstructive azoospermia. *Reproductive Medicine and Biology*, 15(3), 165–173.

Cioppi F, Rosta V, & Krausz C. (2021). Genetics of azoospermia. In *International Journal of Molecular Sciences* 22(6) 3264.

Colaco S & Sakkas D. (2018). Paternal factors contributing to embryo quality. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35(11), 1953–1968.

Coward R.M & Mills J.N. (2017). A step-by-step guide to office-based sperm retrieval for obstructive azoospermia. *Translational Andrology and Urology*, 6(4), 730–744.

Demko Z.P, Simon A.L, McCoy R.C, Petrov D.A, & Rabinowitz M. (2016). Effects of maternal age on euploidy rates in a large cohort of embryos analyzed with 24-chromosome single-nucleotide polymorphism-based preimplantation genetic screening. *Fertility and Sterility*, 105(5), 1307–1313.

Desai N, AbdelHafez F, Sabanegh E, & Goldfarb J. (2009). Paternal effect on genomic activation, clinical pregnancy and live birth rate after ICSI with cryopreserved epididymal versus testicular spermatozoa. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 7(1), 142.

Desai N, Gill P, Tadros N.N, Goldberg J.M, Sabanegh E & Falcone T. (2018). Azoospermia and embryo morphokinetics: testicular sperm-derived embryos exhibit delays in early cell cycle events and increased arrest prior to compaction. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 35(7), 1339–1348.

Esteves S.C, Roque M, Bradley C.K, & Garrido N. (2017). Reproductive outcomes of testicular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with high levels of DNA fragmentation in semen: systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 108(3), 456–467.

Evenson D.P, Djira G, Kasperson K & Christianson J. (2020). Relationships between the age of 25,445 men attending infertility clinics and sperm chromatin structure assay (SCSA®) defined sperm DNA and chromatin integrity. *Fertility and Sterility*, 114(2), 311–320.

Fedder J, Crüger D, Oestergaard B & Bruun Petersen G. (2004). Etiology of azoospermia in 100 consecutive nonvasectomized men. *Fertility and Sterility*, 82(5), 1463–1465.

Flannigan R.K & Schlegel P.N. (2019). Microdissection testicular sperm extraction: preoperative patient optimization, surgical technique, and tissue processing. *Fertility and Sterility*, 111(3), 420–426.

Fowler K.E, Mandawala A.A & Griffin D.K. (2019). The role of chromosome segregation and nuclear organisation in human subfertility. *Biochemical Society Transactions*, 47(1), 425–432.

Gardner D.K & Schoolcraft W.B. (1999). Culture and transfer of human blastocysts. *Current Opinion in Obstetrics and Gynaecology*, 11(3), 307–311.

Gervasi M.G & Visconti P.E. (2017). Molecular changes and signaling events occurring in spermatozoa during epididymal maturation. *Andrology*, 5(2), 204–218.

Ghanem M, Bakr N.I, Elgayaar, M, el Mongy S, Fathy & Ibrahim A.A. (2005). Comparison of the outcome of intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non-obstructive azoospermia in the first cycle: a report of case series and meta-analysis. *International Journal of Andrology*, 28(1), 16–21.

Gianaroli L, Magli M.C, Cavallini G, Crippa A, Nadalini M, Bernardini L, Menchini Fabris G. F, Voliani S & Ferraretti A.P. (2005). Frequency of aneuploidy in sperm from patients with extremely severe male factor infertility. *Human Reproduction*, 20(8), 2140–2152.

Gianaroli L, Magli M.C, Ferraretti A.P, Fortini D & Grieco N. (2003). Pronuclear morphology and chromosomal abnormalities as scoring criteria for embryo selection. *Fertility and Sterility*, 80(2), 341–349.

Goto S, Kadowaki T, Tanaka S, Hashimoto H, Kokeyuchi S & Shiotani M. (2011). Prediction of pregnancy rate by blastocyst morphological score and age, based on 1,488 single frozen-thawed blastocyst transfer cycles. *Fertility and Sterility*, 95(3), 948–952.

Göker E.N.T, Sendag F, Levi R, Sendag H & Tavmergen E. (2002). Comparison of the ICSI outcome of ejaculated sperm with normal, abnormal parameters and testicular sperm. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 104(2), 129–136.

Haidl G, Badura B & Schill W. (1994). Function of Human Epididymal Spermatozoa. *Journal of Andrology*, 15(S6), 23-27.

Hopps C.V. (2003). Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions. *Human Reproduction*, 18(8), 1660–1665.

Howell S.J, Radford J.A, Ryder W.D.J & Shalet S.M. (1999). Testicular Function After Cytotoxic Chemotherapy: Evidence of Leydig Cell Insufficiency. *Journal of Clinical Oncology*, 17(5), 1493–1493.

Huang I-S, Huang W.J & Lin A.T. (2018). Distinguishing non-obstructive azoospermia from obstructive azoospermia in Taiwanese patients by hormone profile and testis size. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(6), 531–535.

Ishikawa T, Mizuta S, Yamaguchi K, Takaya Y, Matsubayashi H, Takeuchi T & Kitaya K. (2018). The assessment of testicular sperm extraction (TESE) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in couples of post chemotherapy non-obstructive azoospermia (NOA). *Fertility and Sterility*, 110(4), e299.

Ishikawa T, Yamaguchi K, Ohara Y, Doshida M, Matsubayashi H & Takeuchi T. (2022). Clinical outcomes of mikrodissection testicular sperm extraction (mikro TESE) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in non-obstructive azoospermia (NOA) with the history of cryptorchidism. *Fertility and Sterility*, 118(4), e90–e91.

Johnson S.L, Dunleavy J, Gemmell N.J & Nakagawa S. (2015). Consistent age-dependent declines in human semen quality: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*, 19, 22–33.

Klami R, Mankonen H & Perheentupa A. (2018). Successful mikrodissection testicular sperm extraction for men with non-obstructive azoospermia. *Reproductive Biology*, 18(2), 137–142.

Klami R, Tomás C, Mankonen H & Perheentupa A. (2024). ICSI outcome after microdissection testicular sperm extraction, testicular sperm aspiration and ejaculated sperm. *Reproductive Biology*, 24(1), artikkeli: 100825.

Klami R, Mankonen H, & Perheentupa A. (2018). Siittiöitä suoraan kiveksistä? *Duodecim*, 2018;134, 1897-1903

Krausz C, Cioppi F & Riera-Escamilla A. (2018). Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 18(4), 331–346.

Krausz C & Riera-Escamilla A. (2018). Genetics of male infertility. *Nature Reviews Urology*, 15(6), 369–384.

Loutradi K.E, Tarlatzis B.C, Goulis D.G, Zepiridis L, Pagou T, Chatziioannou E, Grimbizis G.F, Papadimas I & Bontis I. (2006). The effects of sperm quality on embryo development after intracytoplasmic sperm injection. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 23(2), 69–74.

Lundin K, Bergh C & Hardarson T. (2001). Early embryo cleavage is a strong indicator of embryo quality in human IVF. *Human Reproduction*, 16(12), 2652–2657.

Madureira C, Cunha M, Sousa M, Neto A. P, Pinho M. J, Viana P, Gonçalves A, Silva J, Teixeira da Silva J, Oliveira C, Ferraz L, Dória S, Carvalho F & Barros A. (2014). Treatment by testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection of 65 azoospermic patients with non-mosaic Klinefelter syndrome with birth of 17 healthy children. *Andrology*, 2(4), 623–631.

Magli M.C, Crippa A, Benincasa M, Terzuoli G, Azzena S, Maresca L, Albanese C, Colombo F, Ferraretti A.P & Gianaroli L. (2020). Sperm chromosome abnormalities in patients with normal karyotype and in translocation carriers: clinical relevance for assisted reproductive technology. *Reproductive BioMedicine Online*, 41(6), 1055–1069.

Mateu E, Rodrigo L, Martínez M.C, Peinado V, Milán M, Gil-Salom M, Martínez-Jabaloyas J.M, Remohí J, Pellicer A & Rubio, C. (2010). Aneuploidies in embryos and spermatozoa from patients with Y chromosome microdeletions. *Fertility and Sterility*, 94(7), 2874–2877.

Meistrich M.L. (2013). Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertility and Sterility*, 100(5), 1180–1186.

Mougou-Zerelli S, Brahem S, Kammoun M, Jerbi M, Elghezal H, Ajina M & Saad A. (2011). Detection of aneuploidy rate for chromosomes X, Y and 8 by fluorescence in-situ hybridization in spermatozoa from patients with severe non-obstructive oligozoospermia. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 28(10), 971–977.

Nicopoulos J.D.M. (2004). The results of 154 ICSI cycles using surgically retrieved sperm from azoospermic men. *Human Reproduction*, 19(3), 579–585.

Oates R. (2016). Adolescent Klinefelter syndrome: is there an advantage to testis tissue harvesting or not? *F1000Research*, 5, Artikkeli:1595.

Oron G, Son W-Y, Buckett W, Tulandi T & Holzer H. (2014). The association between embryo quality and perinatal outcome of singletons born after single embryo transfers: a pilot study. *Human Reproduction*, 29(7), 1444–1451.

Palermo G. (1992). Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet*, 340(8810), 17–18.

Park Y-S, Lee S-H, Lim C.K, Cho J.W, Yang K.M & Seo J.T. (2015). Effect of testicular spermatozoa on embryo quality and pregnancy in patients with non-obstructive azoospermia. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 61(5), 300–306.

Pellegrini L & Cozzolino M. (2023). Embryo quality evaluation and cryopreservation. In *Management of Infertility* (pp. 309–316).

Pitteloud N, Durrani S, Raivio T & Sykiotis G.P. (2010). *Complex Genetics in Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism* (pp. 142–153).

Racowsky C, Stern J.E, Gibbons W.E, Behr B, Pomeroy K.O & Biggers J.D. (2011). National collection of embryo morphology data into Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System: associations among day 3 cell number, fragmentation and blastomere asymmetry, and live birth rate. *Fertility and Sterility*, 95(6), 1985–1989.

Racowsky C, Vernon M, Mayer J, Ball G.D, Behr B, Pomeroy K.O, Winer D, Gibbons W, Conaghan J & Stern J.E. (2010). Standardization of grading embryo morphology. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 27(8), 437–439.

Sangwan J.S, Petit C, Rose R. sainte, Frapsauce C, Dijols L, Rigot J.M & Guérif F. (2021). Non-obstructive idiopathic azoospermia vs azoospermia with antecedents of cryptorchidism: ways and probabilities of becoming parents. *Basic and Clinical Andrology*, 31(1), 30.

Schiff J. D, Palermo G. D, Veeck L. L, Goldstein M, Rosenwaks Z & Schlegel P. N. (2005). Success of Testicular Sperm Injection and Intracytoplasmic Sperm Injection in Men with Klinefelter Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(11), 6263–6267.

Sharlip I.D, Jarow J.P, Belker A.M, Lipshultz L.I, Sigman M, Thomas A.J, Schlegel P.N, Howards S.S, Nehra A, Damewood M.D, Overstreet J.W & Sadovsky R. (2002). Best practice policies for male infertility. *Fertility and Sterility*, 77(5), 873–882.

Shulman A. (1999). In-vitro fertilization treatment for severe male factor: the fertilization potential of immotile spermatozoa obtained by testicular extraction. *Human Reproduction*, 14(3), 749–752.

Skakkebaek N.E, Rajpert-De Meyts E, Buck Louis G.M, Toppari J, Andersson A-M, Eisenberg M.L, Jensen T.K, Jørgensen N, Swan S.H, Sapra K.J, Ziebe S, Priskorn L & Juul A. (2016). Male Reproductive Disorders and Fertility Trends: Influences of Environment and Genetic Susceptibility. *Physiological Reviews*, 96(1), 55–97.

Stouffs K, Gheldof A, Tournaye H, Vandermaelen D, Bonduelle M, Lissens W, & Seneca S. (2016). Sertoli Cell-Only Syndrome: Behind the Genetic Scenes. *BioMed Research International*, 2016, 1–7.

Sun F, Mikhaail-Philips M, Oliver-Bonet M, Ko E, Rademaker A, Turek P & Martin R.H. (2008). Reduced meiotic recombination on the XY bivalent is correlated with an increased incidence of sex chromosome aneuploidy in men with non-obstructive azoospermia. *Molecular Human Reproduction*, 14(7), 399–404.

Tanaka A, Nagayoshi M, Takemoto Y, Tanaka I, Kusunoki H, Watanabe S, Kuroda K, Takeda S, Ito M & Yanagimachi R. (2015). Fourteen babies born after round spermatid injection into human oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(47), 14629–14634.

Tiitinen A & Savolainen-Peltonen H. (2019). Lapsettomuus. *Naistentaudit ja synnytykset*, Duodecim

Tournaye H, Camus M, Goossens A, Liu J, Nagy P, Silber S, van Steirteghem A.C & Devroey P. (1995). Recent concepts in the management of infertility because of non-obstructive azoospermia. *Human Reproduction*, 10(suppl 1), 115–119.

Tournaye H, Krausz C & Oates R.D. (2017). Novel concepts in the aetiology of male reproductive impairment. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 5(7), 544–553.

Vahidi S, Narimani N, Abouei S, Sadeghi A, Lorian K & Rahavian A. (2021). Comparison of intracytoplasmic sperm injection outcomes in azoospermic men who underwent testicular sperm extraction vs. microdissection testicular sperm extraction: A cross-sectional study. *International Journal of Reproductive Biomedicine (IJRM)*, 837–844.

van Marion E.S, Speksnijder J.P, Hoek J, Boellaard W.P.A, Dinkelman-Smit M, Chavli E.A, Steegers-Theunissen R.P.M, Laven J.S.E & Baart E.B. (2021). Time-lapse imaging of human embryos fertilized with testicular sperm reveals an impact on the first embryonic cell cycle. *Biology of Reproduction*, 104(6), 1218–1227.

Vander Borgh M & Wyns C. (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62, 2–10.

Veeck L.L. (1999). *An Atlas of Human Gametes and Conceptuses* (L. L. Veeck, Ed.). CRC Press.

Ventimiglia E, Capogrosso P, Boeri L, Serino A, Colicchia M, Ippolito S, Scano R, Papaleo E, Damiano R, Montorsi F & Salonia A. (2015). Infertility as a proxy of general male health: results of a cross-sectional survey. *Fertility and Sterility*, 104(1), 48–55.

Verheyen G, Popovic-Todorovic B & Tournaye H. (2017). Processing and selection of surgically-retrieved sperm for ICSI: a review. *Basic and Clinical Andrology*, 27(1), 6.

Vernaev V, Tournaye H, Osmanagaoglu K, Verheyen G, van Steirteghem A & Devroey P. (2003). Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is less successful in men with nonobstructive azoospermia than in men with obstructive azoospermia. *Fertility and Sterility*, 79(3), 529–533.

Vialard F, Bailly M, Bouazzi H, Albert M, Pont J.C, Mendes V, Bergere M, Gomes D.M, de Mazancourt P & Selva J. (2012). The High Frequency of Sperm Aneuploidy in Klinefelter Patients and in Nonobstructive Azoospermia Is Due to Meiotic Errors in Euploid Spermatocytes. *Journal of Andrology*, 33(6), 1352–1359.

Vogt P. (1996). Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Human Molecular Genetics*, 5(7), 933–943.

Vojtech L, Woo S, Hughes S, Levy C, Ballweber L, Sauteraud R.P, Strobl J, Westerberg K, Gottardo R, Tewari M & Hladik F. (2014). Exosomes in human semen carry a distinctive repertoire of small non-coding RNAs with potential regulatory functions. *Nucleic Acids Research*, 42(11), 7290–7304.

Weedin J.W, Bennett R.C, Fenig D.M, Lamb D.J & Lipshultz L.I. (2011). Early Versus Late Maturation Arrest: Reproductive Outcomes of Testicular Failure. *Journal of Urology*, 186(2), 621–626.

World Health Organization. (2021). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Sixth edition* (6th ed.).

Välämäki, M. (2009). Hypogonadismi. *Endokrinologia* (p. 632). Duodecim.

Yalcin I, Berker B, Sukur Y.E, Kahraman K & Ates C. (2017). Comparison of intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa success in infertile men with obstructive and non-obstructive azoospermia; a retrospective analysis. *Human Fertility*, 20(3), 186–191.

Yamaguchi K, Ishikawa T, Mizuta S, Takeuchi T, Matsubayashi H, Kokeyuchi S, Habara T, Ichioka K, Ohashi M, Okamoto S, Kawamura T, Kanto S, Taniguchi H, Tawara F, Hara T, Hibi H, Masuda H, Matsuyama T & Yoshida H. (2020). Clinical outcomes of microdissection testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in Japanese men with Y chromosome microdeletions. *Reproductive Medicine and Biology*, 19(2), 158–163.

Young J, Xu C, Papadakis G.E, Acierno J.S, Maione L, Hietamäki J, Raivio T & Pitteloud N. (2019). Clinical Management of Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism. *Endocrine Reviews*, 40(2), 669–710.

Zaninović N & Schlegel P.N. (2013). MicroTESE and Embryo Development. In *Atlas on the Human Testis* (pp. 7–21). Springer London.

Zhang H-L, Zhao L-M, Mao J-M, Liu D-F, Tang W-H, Lin H-C, Zhang L, Lian Y, Hong K & Jiang H. (2021). Sperm retrieval rates and clinical outcomes for patients with different causes of azoospermia who undergo microdissection testicular sperm extraction-intracytoplasmic sperm injection. *Asian Journal of Andrology*, 23(1), 59–63.

Zhang L, Mao J, Li M, Lian Y, Lin S, Chen L, Yan L, Qiao J & Liu P. (2021). Poor intracytoplasmic sperm injection outcome in infertile males with azoospermia factor c microdeletions. *Fertility and Sterility*, 116(1), 96–104.

Zheng J, Lu Y, Qu X, Wang P, Zhao L, Gao M, Shi H & Jin X. (2016). Decreased Sperm Motility Retarded ICSI Fertilization Rate in Severe Oligozoospermia but Good-Quality Embryo Transfer Had Achieved the Prospective Clinical Outcomes. *PLOS ONE*, 11(9), artikkeli: e0163524.