



**PRIMO CONVEGNO
REGIONALE LOMBARDO
DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI
RIPRODUZIONE UMANA
(S.I.R.U.)**

**XXXIX
SABATO DELL'ANDROLOGIA**

**COLLOQUI IN PMA
TRA GINECOLOGI,
BIOLOGI E ANDROLOGI**

**16 FEBBRAIO 2019
PADERNO DUGNANO**

Clinica San Carlo - Via Ospedale, 21
(Auditorium del Nuovo Ospedale)

CON IL PATROCINIO DI S.I.R.U.



EDI I.S.E.S.



Outcome della ICSI con gameti da microTESE

Dr.ssa Patrizia Testa
Responsabile Laboratorio Centro PMA
Clinica San Carlo, Paderno Dugnano

Il primo report relativo all'utilizzo di spermatozoi testicolari in un ciclo di PMA risale al 1993.

Journal of Assisted Reproduction and Genetics
<https://doi.org/10.1007/s10815-018-1234-1>

ASSISTED REPRODUCTION TECHNOLOGIES

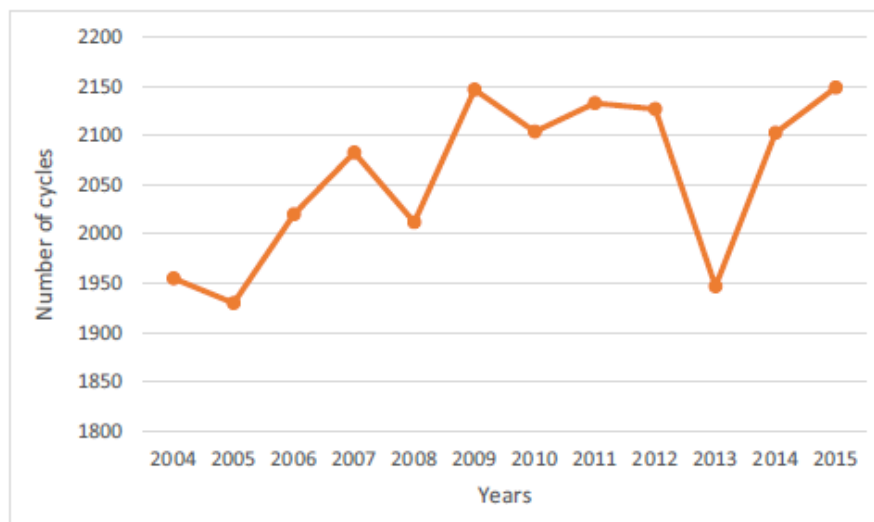


Clinical outcomes following ICSI cycles using surgically recovered sperm and the impact of maternal age: 2004–2015 SART CORS registry

A. M. Mahesan¹ · S. Sadek¹ · V. Moussavi¹ · T. Vazifedan² · A. Majeed² · T. Cunningham³ · S. Oehninger¹ · S. Bocca¹

Received: 15 March 2018 / Accepted: 8 June 2018
© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2018

Fig. 1 Number of cycles using surgically retrieved sperm from 2004 to 2015, the SART CORS database



Negli ultimi 11 anni (2004-2015) in USA sono stati eseguiti 24.763 cicli di ICSI con spermatozoi recuperati chirurgicamente.

Review Article

Microdissection testicular sperm extraction

Ryan Flannigan, Phil V. Bach, Peter N. Schlegel

Weill Cornell Medicine, New York, NY, USA

Contributions: (I) Conception and design: All authors; (II) Administrative support: None; (III) Provision of study material or patients: None; (IV) Collection and assembly of data: All authors; (V) Data analysis and interpretation: All authors; (VI) Manuscript writing: All authors; (VII) Final approval of manuscript: All authors.

Correspondence to: Ryan Flannigan, MD. 525 East 68th Street, Starr Pavilion, 9th Floor, New York, NY 10021, USA. Email: ryf9003@med.cornell.edu.

Abstract: Microdissection testicular sperm extraction (microTESE) is considered the gold standard method for surgical sperm retrieval among patients with non-obstructive azoospermia (NOA). In this review,

we will discuss the optimal evaluation of NOA patients and strategies to medically optimize NOA patients prior to microTESE. In addition, we will also discuss technical principles and pearls to maximize the chances of successful sperm retrieval, sperm retrieval rates (SRR) based upon testicular histology, predictors of successful sperm retrieval, gonadal recovery following microTESE, and potential complications.

Keywords: Non-obstructive azoospermia (NOA); surgical sperm retrieval; testicular sperm extraction (TESE); microdissection testicular sperm extraction (microTESE); male infertility

Reproductive outcomes, including neonatal data, following sperm injection in men with obstructive and nonobstructive azoospermia: case series and systematic review

Sandro C. Esteves,¹ Ashok Agarwal^{II}

¹ANDROFERT – Andrology & Human Reproduction Clinic, Campinas, São Paulo, Brazil. ^{II}Center for Reproductive Medicine, The Cleveland Clinic Foundation, Cleveland, Ohio, USA.

Valutati 1.092 cicli di ICSI di cui 621 eseguiti con spermatozoi da eiaculato e 471 con spermatozoi testicolari.

370 pazienti azoospermici di cui 182 OA e 188 NOA.

Tecniche utilizzate per il recupero chirurgico: PESA, TESA, TESE, micro-TESE.

Età media delle partner e profilo ormonale omogeneo nei tre diversi gruppi inclusi nello studio.

OUTCOMES: fertilization rate, high quality embryo rate, PR, LBR, miscarriage rates, multiple pregnancy rate, ectopic pregnancy rate.

(Esteves et al., 2012)

Table 2 - Patient Characteristics and Comparison of Laboratory and Clinical Outcomes after Sperm Injections in Azoospermic (Obstructive and Nonobstructive) and Non-azoospermic Infertile Males.

| | Obstructive Azoospermia | Nonobstructive Azoospermia | Ejaculated Sperm | p-value |
|---|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Patient Characteristics | | | | |
| No. of patients | 182 | 188 | 465 | |
| Mean \pm SD male age; years | 42.6 \pm 9.0 ^a | 37.0 \pm 7.6 ^b | 36.3 \pm 8.9 ^c | <0.001 ^(a vs. b,c) |
| Mean \pm SD female age; years | 32.6 \pm 5.8 | 32.4 \pm 4.7 | 33.0 \pm 6.8 | 0.26 |
| Laboratory Outcomes | | | | |
| No. of cycles | 243 | 228 | 621 | |
| Mean \pm SD no. oocytes retrieved | 11.8 \pm 7.7 | 12.7 \pm 6.9 | 11.7 \pm 7.0 | 0.07 |
| Mean \pm SD% 2PN fertilization* | 62.9 \pm 22.3 ^a | 43.7 \pm 27.9 ^b | 64.5 \pm 35.8 ^c | <0.001 ^(b vs. a,c) ← |
| Mean \pm SD% high-quality embryo [§] | 52.50 \pm 30.2 ^a | 45.3 \pm 33.6 ^b | 47.8 \pm 32.4 ^c | = 0.01 ^(b vs. a,c) ← |
| No. embryo transfers | 237 | 210 | 594 | |
| Mean \pm SD no. embryos transferred | 2.7 \pm 1.3 | 2.7 \pm 1.6 | 2.7 \pm 1.4 | 0.99 |
| Clinical Outcomes | | | | |
| No. clinical pregnancies (%) | 116 (48.9) ^a | 60 (28.6) ^b | 248 (41.7) ^c | <0.001 ^(b vs. a,c) ← |
| No. ectopic pregnancies (%) | 2 (1.7) | 3 (5.0) | 8 (3.2) | 0.22 |
| No. miscarriages (%) | 24 (21.0) | 11 (19.2) | 47 (19.6) | 0.75 |
| No. live births (%) | 89 (37.5) ^a | 45 (21.4) ^b | 192 (32.3) ^c | = 0.003 ^(b vs. a,c) |
| No. multiple births (%) | 22 (24.4) | 13 (28.3) | 46 (23.8) | 0.52 |

**Tasso di fecondazione e di embrioni di ottima qualità
significativamente ridotti nei NOA.**

**LBR significativamente ridotta nei NOA (21.4 %)
rispetto agli OA (37.5%) e agli infertili (32.3%)**

(Esteves et al., 2012)

Table 3 - Neonatal Outcomes of Children Born Following Sperm Injection in Azoospermic and Non-azoospermic Infertile Males.

| | Obstructive Azoospermia | Nonobstructive Azoospermia | Ejaculated Sperm | p-value |
|--|-------------------------|----------------------------|------------------------|--------------------------------------|
| No. live birth singletons | 67 | 32 | 145 | |
| Mean \pm SD gestational weeks at birth | 37.5 \pm 2.2 | 37.8 \pm 2.1 | 38.0 \pm 2.1 | 0.11 |
| No. preterm births (%) | 12 (17.9) | 3 (9.4) | 14 (9.7) | 0.10 |
| Mean \pm SD birth weight (grams) | 2,963 \pm 480 | 2,957 \pm 667 | 3,092 \pm 579 | 0.24 |
| No. low birth weights (%) | 7 (10.5) | 3 (9.4) | 10 (6.9) | 0.37 |
| No. very low birth weights (%) | 2 (2.9) | 2 (6.2) | 4 (2.8) | 0.38 |
| No. live birth twins | 17 | 9 | 37 | |
| Mean \pm SD gestational weeks at birth | 35.6 \pm 2.8 | 36.2 \pm 2.4 | 37.0 \pm 2.3 | 0.06 |
| No. preterm births (%) | 8 (47.1) | 4 (44.5) | 10 (27.0) | 0.15 |
| Mean \pm SD birth weight (grams) | 2,261 \pm 594 | 2,357 \pm 403 | 2,461 \pm 672 | 0.30 |
| No. low birth weights (%) | 11 (64.7) | 6 (66.6) | 18 (48.7) | 0.28 |
| No. very low birth weights (%) | 2 (11.7) | 1 (11.1) | 4 (10.8) | 0.92 |
| No. live birth triplets | 5 | 4 | 9 | |
| Mean \pm SD gestational weeks at birth | 32.6 \pm 3.1 | 32.3 \pm 5.9 | 32.6 \pm 4.5 | 0.93 |
| No. preterm births (%) | 4 (80.0) | 2 (50.0) | 2 (22.2) | 0.37 |
| Mean \pm SD birth weight (grams) | 1,660 \pm 624 | 1,311 \pm 471 | 1,600 \pm 642 | 0.35 |
| No. low birth weights (%) | 4 (80.0) | 3 (75.0) | 8 (77.8) | 0.87 |
| No. very low birth weight (%) | 2 (40.0) | 3 (75.0) | 3 (33.3) | 0.32 |
| Total No. children born | 117 | 63 | 247 | |
| No. perinatal deaths* | 3 (2.5) | 4 (6.3) | 5 (2.0) | 0.10 |
| Gender | | | | |
| No. boys (%) | 66 (56.4) ^a | 26 (41.4) ^b | 98 (39.7) ^c | 0.02 ^a vs. ^{b,c} |
| No. girls (%) | 43 (36.8) | 35 (55.5) | 122 (49.4) | 0.02 ^a vs. ^{b,c} |
| No. unknown (%) | 8 (6.8) | 2 (3.1) | 27 (10.9) | 0.06 |
| No. birth defects (%) | 2 (1.7) | 2 (3.2) | 3 (1.2) | 0.26 |

Outcome neonatali comparabili alla popolazione degli azoospermici ostruttivi e agli infertili

Table 4 - Studies Comparing Pregnancy Outcomes after Intracytoplasmic Sperm Injection using Surgically-retrieved Spermatozoa in Men with Obstructive and Nonobstructed Azoospermia.

| Authors; Year (reference) | Design | Region | OA vs. NOA; number of cycles | Control group of ejaculated sperm; yes/no; No. cycles | Most relevant pregnancy outcome assessed | Main findings | Other findings |
|------------------------------------|---|---------|------------------------------|---|--|---|---|
| Aboulghar et al.; 1997 (21) | Retrospective | Egypt | 126 vs. 80 | Yes; 102 | CPR | Lower CPR for NOA compared with other groups | Miscarriage rate and multiparity rates presented but not compared |
| Ghazzawi et al. 1998 (22) | Prospective | Jordan | 19 vs. 30 | Yes; 28 | LBR | Lower LBR when testicular sperm from men with NOA was used (10%) compared with ejaculated (21%) or epididymis (22%) | Increased miscarriage rate when testicular sperm from NOA men were used |
| Ubaldi et al.; 1999 (23) | Prospective controlled | Italy | 33 vs. 29 | Yes; 62 | Ongoing pregnancy and LBR | Similar results among groups | Implantation rate lower in NOA (13.4%) vs. ejaculated sperm or OA (~26%) |
| Palermo et al.; 1999 (24) | Retrospective | USA | 255 vs. 53 | No | LBR | Lower LBR with testicular sperm from NOA vs. epididymal sperm from OA | Similar malformation rate between groups |
| De Croo et al.; 2000 (25) | Retrospective | Belgium | 139 vs. 54 | No | LBR | Similar LBR between OA (16.2%) and NOA (22.6%) | Miscarriage and multiparity described but not compared |
| Bukulmez et al.; 2001 (26) | Retrospective | Turkey | 43 vs. 53 | Yes; 780 | CPR | No difference in outcome | NR |
| Schwarzer et al. 2003 (27) | Retrospective | Germany | 300 vs. 414 | No | LBR | Lower LBR in NOA (19%) vs. OA (28%) | NR |
| Ghanem et al.; 2005 (28) | Case series and meta-analysis of cohort studies | Egypt | 48 vs. 42 | No | CPR | Similar CPR between OA (25%) and NOA (23.1%) | Lower fertilization rate in NOA |
| La Sala et al.; 2006 (29) | Retrospective | Italy | NA | NA | CPR | Similar CPR in OA (12.9%) vs. NOA (15.4%) | NR |
| Verza Jr & Esteves; 2008 (15) | Retrospective | Brazil | 39 vs. 54 | Yes; 220 | CPR | Lower pregnancy rates (25.9%) in NOA compared with OA (51.3%) and ejaculated sperm (36.6%) | Miscarriage rates did not differ between groups |
| Semião-Francisco et al.; 2010 (30) | Retrospective | Brazil | 274 vs. 102 | No | CPR | No differences in CPR between groups | Higher miscarriage rate in OA with the use of testicular sperm compared with epididymal sperm |
| He et al., 2010 (31) | Retrospective | China | 112 vs. 42 | No | CPR | Lower CPR in NOA (21.4%) than OA (40.2%) | Similar miscarriage rates |

AO = obstructive azoospermia; NOA = nonobstructive azoospermia; LBR = live birth rate; CPR = clinical pregnancy rate; NR = not reported; NA = not available.

Pochi studi hanno confrontato gli outcome distinguendo tra OA e NOA e i dati sono limitati

Anche i dati neonatali richiedono maggiori studi

Table 5 - Studies Comparing Neonatal and Developmental Outcomes of Children Born Following Intracytoplasmic Sperm Injection using Surgically-retrieved Spermatozoa from Men with Obstructive and Nonobstructed Azoospermia.

| Authors; Year (reference) | Design | Region | OA vs. NOA; Number of children | Control group of children born with ejaculated sperm; yes/no | Outcomes assessed | Main findings |
|---------------------------|---------------|---------|--------------------------------|--|--|---|
| Palermo et al. 1999 (24) | Retrospective | USA | 158 vs. 22 | No | Malformation rate | Congenital malformation rate did not differ in OA (1.3%) compared with NOA (4.5%) |
| Vernaee et al. 2003 (32) | Retrospective | Belgium | 196 vs. 61 | No | Multiple pregnancy rates, gestational age, birth weight, preterm delivery, low birth weight, malformation rate | Similar multiple birth, overall preterm delivery, low birth weight, perinatal death and malformation rates (3% OA; 4% NOA). Lower gestational age in singletons and increased frequency of premature twins in the NOA group |
| Fedder et al 2007 (33) | Retrospective | Denmark | 282 vs. 76 | No | Multiple pregnancy rates; congenital anomalies | Malformation rate in OA (4.0%); No malformations reported in NOA group |
| Belva et al.; 2011 (34) | Prospective | Belgium | 474 vs. 193 | No | Multiple pregnancy rates, gestational age, birth weight, preterm delivery, low birth weight, malformation rate | Similar multiple birth, overall preterm delivery, low birth weight, perinatal death and malformation rates (5.2% OA; 4.2% NOA) |

Comparison of sperm retrieval and reproductive outcome in azoospermic men with testicular failure and obstructive azoospermia treated for infertility

Sandro C Esteves¹, Christina Prudencio¹, Bill Seol¹, Sidney Verza Jr¹, Christopher Knoedler², Ashok Agarwal²

365 pazienti NOA:

- Sertoli cell-only Sindrome (SCOS) 57,6%
- Arresto maturativo (MA) 18,8%
- Ipo-spermatogenesi 23,6%

Spermatozoi testicolari recuperati con microTESE

Tassi di recupero inferiori nei pazienti con SCOS o MA (19,5% - 40,3%) rispetto alla ipo-spermatogenesi (100%)

40 pazienti con recupero negativo hanno utilizzato seme da donatore

Table 2: ICSI outcome in azoospermic men with testicular failure, stratified by successful and failed sperm retrieval (donor sperm), and obstructive azoospermia

| | <i>Testicular failure</i> | <i>Donor sperm</i> | <i>Obstructive azoospermia^a</i> | <i>P value</i> |
|---------------------------------------|---------------------------|--------------------|--|----------------------|
| Number of cycles | 151 | 40 | 146 | |
| Female | | | | |
| Age (year) | 32.7±5.4 | 31.4±3.5 | 32.5±5.8 | 0.32 |
| Basal serum FSH (IU l ⁻¹) | 5.6±2.7 | 4.6±1.8 | 5.8±3.0 | 0.07 |
| Infertility duration (year) | 4.3±3.1 | 3.6±2.2 | 5.1±4.1 | 0.08 |
| Number of oocytes | | | | |
| Retrieved | 13.7±4.4 | 12.7±6.7 | 12.3±7.9 | 0.16 |
| Metaphase II | 10.0±5.7 | 11.5±4.2 | 9.9±6.1 | 0.07 |
| → Two pronuclei fertilization (%) | 47.0±30.0 | 61.0±17.0 | 64.0±22.0 | <0.001 ^a |
| Embryos | | | | |
| → High quality (%) | 43.3±35.0 | 66.5±24.3 | 60.9±39.2 | <0.001 ^b |
| Transferred (<i>n</i>) | 2.7±1.4 | 2.6±1.5 | 2.8±1.3 | 0.51 |
| Clinical pregnancy, <i>n</i> (%) | 42 (27.8) | 20 (50.0) | 67 (46.9) | 0.002 ^{c,e} |
| Miscarriage, <i>n</i> (%) | 12 (28.6) | 5 (25.0) | 16 (23.9) | 0.88 |
| → Live birth, <i>n</i> (%) | 30 (19.9) | 15 (37.5) | 50 (34.2) | 0.004 ^{d,e} |

Nel “Testicular Failure Group” (NOA):

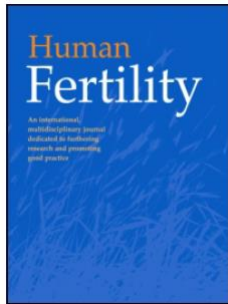
- Tassi di fecondazione e di embrioni di ottima qualità inferiori rispetto ai donatori e agli OA
- Live Birth Rate inferiore rispetto a donatori e OA

Numero medio di embrioni traferiti e miscarriage rate simili.

Table 3: Outcome of neonates born after ICSI in azoospermic men with testicular failure, stratified by successful and failed sperm retrieval (donor sperm), and obstructive azoospermia

| | <i>Testicular failure</i> | <i>Donor sperm</i> | <i>Obstructive azoospermia^a</i> | <i>P value</i> |
|---|---------------------------|--------------------|--|-------------------|
| Deliveries | | | | 0.49 ^b |
| Singletons, <i>n</i> (%) | 18 (58.1) | 10 (62.5) | 39 (76.5) | |
| Twins, <i>n</i> (%) | 9 (29.0) | 4 (25.0) | 10 (19.6) | |
| Triplets, <i>n</i> (%) | 4 (12.9) | 2 (12.5) | 2 (3.9) | |
| Neonates born (<i>n</i>) | 48 | 24 | 65 | - |
| Gestational age (week) | 36.1±3.6 | 36.7±2.6 | 36.3±3.0 | 0.94 |
| Birth weight (gram) | 2962±390 | 2954±498 | 2978±447 | 0.99 |
| Proportion male | 0.56±0.45 | 0.58±0.44 | 0.55±0.457 | 0.97 |
| Perinatal death ^a , <i>n</i> (%) | 1 (2.1) | 0 | 1 (1.5) | 0.46 |
| Malformation, <i>n</i> (%) | 1 (2.1) | 0 | 1 (1.5) | 0.46 |

Gli outcome neonatali non sembrerebbero essere negativamente influenzati dall'utilizzo di spermatozoi recuperati chirurgicamente nei NOA.



Reporting on longitudinal live birth rates and cumulative delivery rates are more realistic outcome measures than sperm retrieval rates in couples undergoing mTESE-ICSI

Khaled Almekaty, Saad Abomelha, Yau Thum, James Nicopoulos, Tim Bracewell-Milnes, Tet Yap & Suks Minhas

Studio retrospettivo su 238 pazienti NOA sottoposti a m-TESE:

- Unilaterale (25.5%)
- Bilaterale (73.5%)

Recupero positivo in 107 pazienti (45%).

Cicli di ICSI eseguiti con spermatozoi recuperati e crioconservati o a fresco.

OUTCOMES: LBR, crude cumulative delivery rate (CCDR) e expected cumulative delivery rate (ECCR).

Table 1. Demographic data of participants.

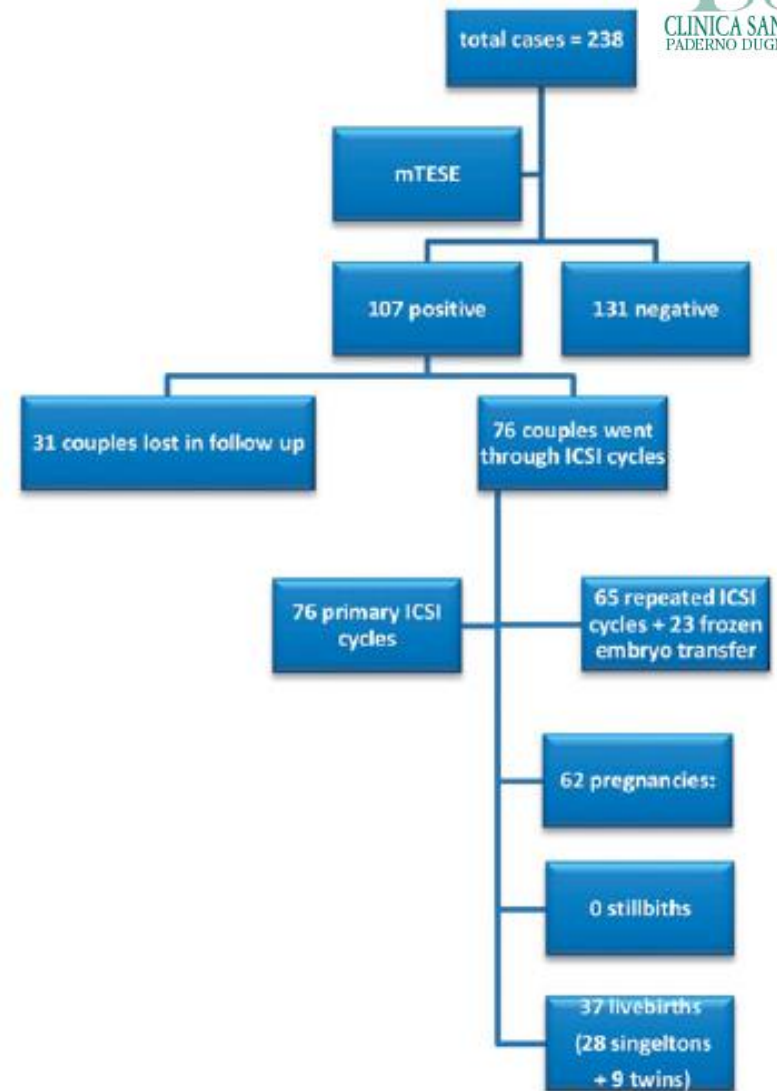
| | |
|---|------------------------|
| Male age, median (IQR) | 42y (37–47) |
| Female age, median (IQR) | 35y (31–38) |
| Genetic profile | All normal |
| <i>Homonal profile (males)</i> | |
| Testosterone, median (IQR) | 11.3 (7.25–17) nmol/L |
| FSH, median (IQR) | 16.6 (8.38–24.75) IU/L |
| LH, median (IQR) | 7.75 (5.9–11.03) IU/L |
| <i>Histopathology of the testicular units^a</i> | |
| Sertoli cell only | 138 |
| Maturation Arrest | 58 |
| HypospERMATogenesis | 33 |
| Tubular Sclerosis | 11 |
| Median Johnsen score, median (IQR) | 2.3 (2–4.8) |

^aTotal of >238 as some patients had different histology in each testis.

Table 4. Treatment characteristics and ICSI outcome.

| | Values |
|------------------------------|----------------|
| <i>Demographics</i> | |
| Female age, median (IQR) | 35 ys (31–38) |
| <i>Fertilization</i> | |
| Ova retrieval, median (IQR) | 9 (6–12) |
| Sperm retrieval | 107/238 (45%) |
| Fresh sperm | 57 (40.4%) |
| Frozen sperm | 84 (59.6%) |
| Fertilized ova, median (IQR) | 4 (2–7) |
| Failed fertilization | 3/141 (2.1%) |
| <i>Embryo transfer</i> | |
| Per cycle, median (IQR) | 2 (1–2) |
| <i>Pregnancy rate</i> | |
| Miscarriage | 21/164 (12.8%) |
| Biochemical only | 3/76 (3.9%) |
| Completed pregnancy | 59/76 (77.6%) |
| Total | 62/76 (81.6%) |
| <i>Live birth rate</i> | |
| Longitudinal ^a | 15.5% (37/238) |
| Of primary cycle | 35.5% (27/76) |
| CCDR after five cycles | 48.7% |
| ECDR after five cycles | 71.1% |

^aLongitudinal rate is the rate after single mTESE-ICSI cycle.



Pregnancy Rate e Live Birth Rate del 57.9% e del 35.5% nel primo ciclo di ICSI.

Procedura a fresco nel 40.4 % dei cicli. Non differenze statisticamente significative in termini di PR e LBR tra spermatozoi a fresco e crioconservati (p=0.68).

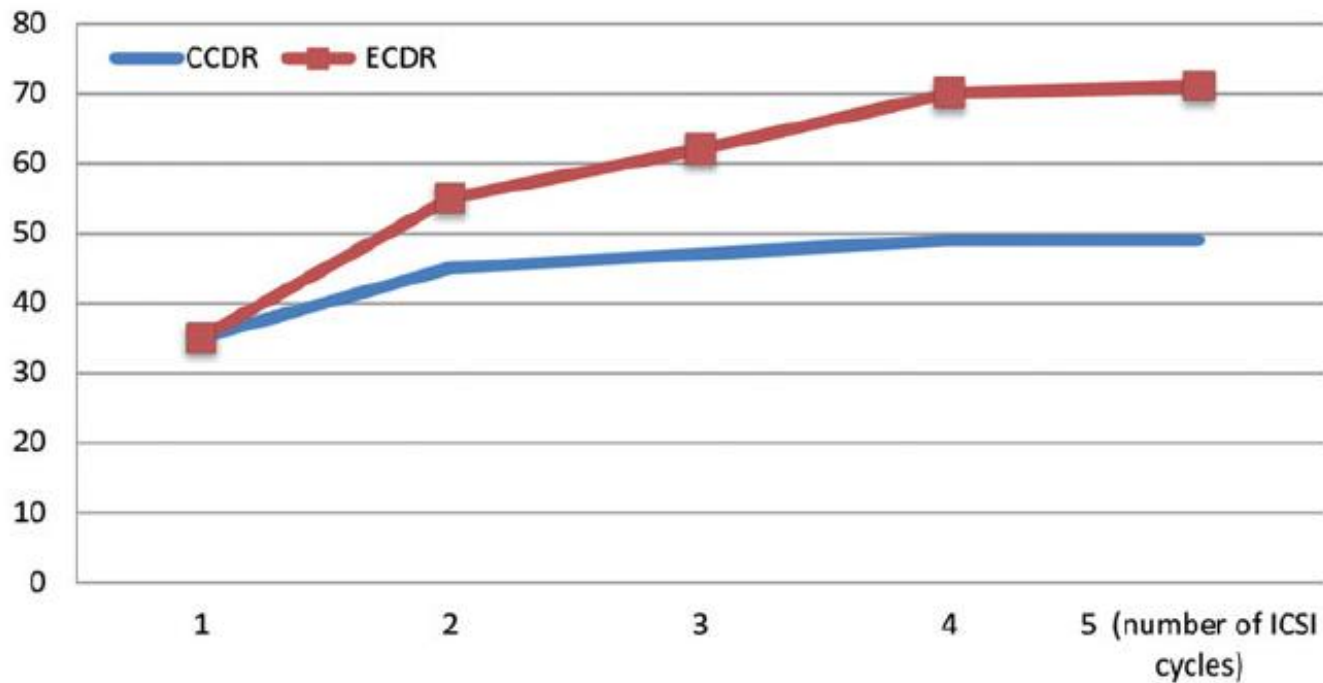


Table 5. ICSI cycle outcomes.

| Cycle number | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------------|------|------|------|------|------|
| Patients (n) | 76 | 26 | 11 | 4 | 1 |
| Live births (n) | 27 | 7 | 2 | 1 | 0 |
| Pregnancies (n) | 44 | 10 | 7 | 1 | 0 |
| CCDR (%) | 35.5 | 44.7 | 47.4 | 48.7 | 48.7 |
| 95% CI (low) | 26.2 | 34.8 | 37.3 | 38.6 | 38.6 |
| 95% CI (high) | 48.0 | 57.4 | 60 | 61.3 | 61.3 |
| ECDR (%) | 35.5 | 52.9 | 61.5 | 71.1 | 71.1 |
| 95% CI (low) | 26.2 | 41.0 | 47.8 | 53.6 | 53.6 |
| 95% CI (high) | 48.1 | 68.3 | 79.0 | 94.2 | 94.2 |
| LBR/cycle (%) | 35.5 | 26.9 | 18.2 | 25 | 0 |

Longitudinal Live Birth Rate per una coppia sottoposta a microTESE pari al 15,5%,

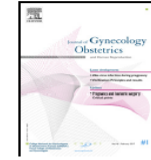
tuttavia i Cumulative Delivery Rates sono incoraggianti e dopo 5 cicli di ICSI si ottengono:

- Crude Cumulative Delivery Rate (CCDR) del 48,7%
- Expected Cumulative Delivery Rate (ECDR) del 71,1%



Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com



Original Article

Outcome of ICSI with motile testicular spermatozoa obtained through microscopically assisted testicular sperm extraction in relation to the ovarian response



E. Erdem^a, M. Karacan^b, A. Usta^{c,*}, A. Arvas^b, Z. Cebi^b, T. Camlibel^b

Studio che analizza la relazione tra il numero di ovociti recuperati e l'outcome della ICSI con spermatozoi recuperati chirurgicamente

340 coppie che hanno eseguito ICSI con spermatozoi recuperati con microTESE

114 cicli con spermatozoi crioconservati

226 cicli con spermatozoi prelevati a fresco

Pazienti divisi in due gruppi a seconda del numero di ovociti recuperati:

Gruppo 1: < 7 ovociti

Gruppo 2: ≥ 7 ovociti

Table 1
Patient demographics and characteristics of ovarian stimulation.

| Variable (n) | Group 1 (< 7 oocytes) (n = 167) | Group 2 (≥ 7 oocytes) (n = 173) | P value |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|----------------------|
| Women's age (y) | 32.7 ± 5.2 | 31.8 ± 4.6 | 0.142 ^a |
| Baseline FSH (IU/L) | 7.4 ± 2.8 | 6.7 ± 2.7 | 0.090 ^a |
| ➔ Antral follicle count (AFC) | 4.8 ± 2.6 | 9.2 ± 3.5 | < 0.001 ^a |
| Duration of stimulation (days) | 9.8 ± 1.9 | 10.3 ± 1.7 | 0.076 ^a |
| ➔ No. of oocytes retrieved (n) | 3.6 ± 1.7 | 13.4 ± 5.4 | < 0.001 ^a |
| No. of cycles with no embryos available (%) | 37 (22.1%) | 18 (10.4%) | 0.005 ^b |
| ➔ No. of oocytes fertilized (n) | 2.6 ± 1.6 | 10.5 ± 4.5 | < 0.001 ^a |
| No. of embryos transferred | 1.9 ± 0.9 | 2.1 ± 1.1 | 0.093 ^a |
| ➔ Clinical pregnancy rate (%) | 28/167 (16.8) | 60/173 (34.7) | < 0.001 ^b |
| Miscarriage rate (%) | 4/28 (14.3) | 7/60 (11.7) | 0.738 ^c |
| Live birth rate (%) | 24/167 (14.4) | 53/173 (30.6) | < 0.001 ^b |

Values are expressed as mean ± SD.

^a Independent samples *t*-test.

^b χ^2 test.

^c Fisher's exact test.

Tasso di Fecondazione, Pregnancy Rate e Live Birth Rate significativamente ridotto nei cicli con < 7 oociti recuperati.

Embryo Transfer non eseguito per assenza di embrioni idonei (P=0,005)

- 37 cicli con < 7 ovociti (37/167, 22.1%)
- 18 cicli con ≥ 7 ovociti (18/173, 10.4%)

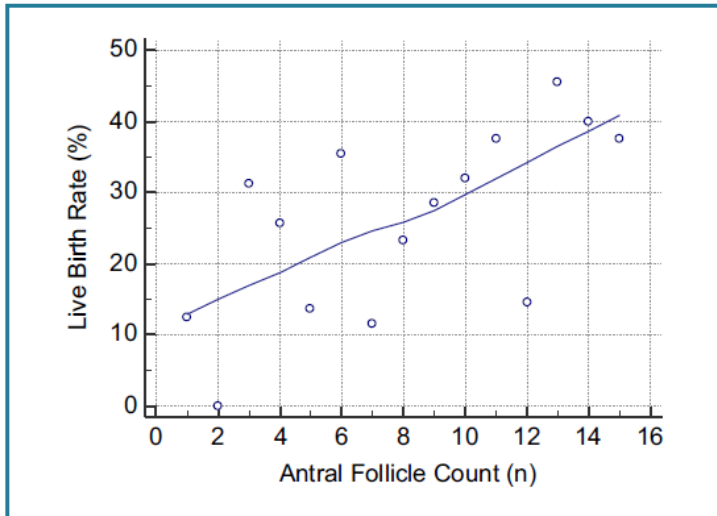


Fig. 1. Correlation between antral follicle count and the live birth rate.

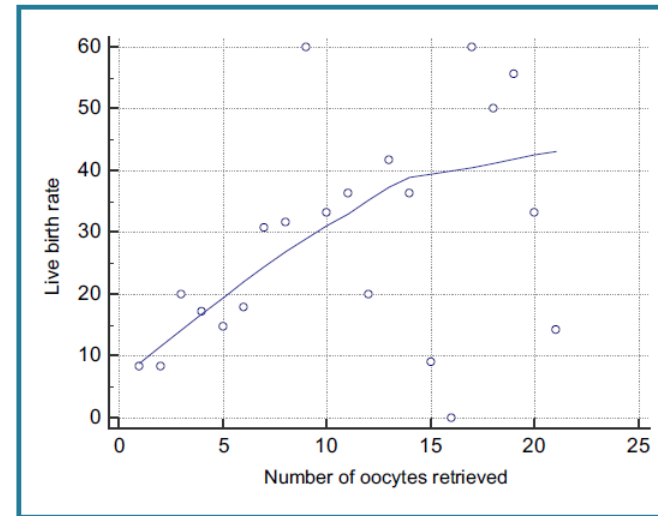


Fig. 3. Correlation between the number of oocytes retrieved and the live birth rate in ICSI cycles with testicular spermatozoa.

LBR significativamente ridotto in donne con AFC < 8 rispetto a quelle con AFC \geq 8

LBR inferiori con 1 o 2 oociti disponibili (8.3 and 8.3%, rispettivamente), tassi non statisticamente diversi nei cicli con 3, 4, 5 e 6 oociti (14.2, 17.2, 18.5, 17.6%, rispettivamente, $P = 0.810$).

Received: 2018.08.08
Accepted: 2018.09.11
Published: 2018.10.01

e-ISSN 1643-3750

© Med Sci Monit, 2018; 24: 6968-6974

DOI: 10.12659/MSM.912613

Pregnancy and Neonatal Outcomes in Azoospermic Men After Intracytoplasmic Sperm Injection Using Testicular Sperm and Donor Sperm

99 pazienti affetti da azoospermia non ostruttiva (NOA)
126 pazienti affetti da azoospermia ostruttiva (OA)

61 pazienti NOA hanno usato seme di donatore dopo
recupero negativo con microTESE

Confronto degli outcome della ICSI e degli outcome neonatali
tra OA, NOA e donatori

Table 3. ICSI outcome in NOA men with successful and failed sperm retrieval (donor sperm), and obstructive azoospermia.

| | Nonobstructive azoospermia | | Obstructive azoospermia |
|--|-------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | Positive sperm retrieval rate | Donor sperm | |
| Number of cycles | 44 | 62 | 145 |
| Female age | 29.3±4. 3(21–39) | 28.7±3.7 (21–38) | 28.9±4.5 (21–44) |
| Oestradiol on HCG administration day (pg/mL) | 2952.6±1461.9 (741–6765) | 2949.6±1660.4 (892–8181) | 3304.3±2198.0 (242–15200) |
| Progesterone on HCG administration day (ng/mL) | 1.1±0.4 (0.2–2.0) | 1.1±1.5 (0.3–12.2) | 1.0±0.4 (0.2–2.9) |
| MII oocytes (n) | 12.6±5.0 (3–23) | 13.4±6.7 (2–36) | 11.2±5.9 (1–28) ^c |
| Two-pronuclear zygote (n) | 7.9±4.4 (1–21) | 9.4±5.0 (1–23) | 8.0±5.0 (1–22) |
| Normal fertilization rate (%) | 63.0 ^a | 70.3 ^b | 71.5 |
| High quality embryo rate (%) | 44.4 ^a | 52.8 | 46.5 ^c |
| Implantation rate (%) | 34.3 ^a | 55.6 | 43.1 ^c |
| Biochemical pregnancy rate (%) | 12.3 | 11.3 | 7.9 |
| Clinical pregnancy rate (%) | 49.1 ^a | 71.3 | 59.7 |
| Miscarriage rate (%) | 20.7 | 15.8 | 16.7 |
| Ongoing pregnancy rate (%) | 15.8 | 16.3 | 9.4 |
| Live birth rate (%) | 24.6 ^a | 41.3 | 38.2 |

^a Statistically significant between positive SRR and donor sperm groups ($P<0.05$; Chi-square test); ^b Statistically significant between positive SRR and OA groups ($P<0.05$; Chi-square test); ^c Statistically significant between donor sperm and OA groups ($P<0.05$; Chi-square test).

Tasso di fecondazione, tasso di embrioni di ottima qualità e di impianto significativamente inferiori nei NOA rispetto a OA e ai donatori.

Clinical Pregnancy Rate e Live Birth Rate significativamente inferiori nei NOA rispetto ai donatori ma non rispetto a OA.

Table 4. Outcome of neonates born after ICSI in NOA men with successful and failed sperm retrieval (donor sperm), and obstructive azoospermia.

| | Nonobstructive azoospermia | | Obstructive azoospermia |
|---------------------|-------------------------------|-------------|-------------------------|
| | Positive sperm retrieval rate | Donor sperm | |
| Delivers (n) | 18 | 46 | 104 |
| Singleton | 10 (55.6%) | 20 (43.5%) | 46 (44.2%) |
| Twin | 8 (44.4%) | 26 (56.5%) | 58 (55.8%) |
| Premature birth (%) | 3 (16.7%) | 9 (19.6%) | 28 (26.9%) |
| Singleton | 1 (10%) | 1 (5.0%) | 6 (13.0%) |
| Twin | 2 (25%) | 8 (30.8%) | 26 (44.8%) |
| Low birthweight | 0 | 4 (6.3%) | 18 (17.3%) |
| Singleton | 0 | 1 (5%) | 2 (4.3%) |
| Twin | 0 | 3 (12%) | 16 (27.6%) |
| Malformations | 0 | 0 | 1 (1%) |
| Stillbirths | 0 | 1 (2.2%) | 4 (3.8%) |

ICSI – Intracytoplasmic sperm injection; NOA – nonobstructive azoospermia.

Outcome neonatali sovrapponibili nei 3 gruppi di pazienti.

L'uso di spermatozoi testicolari influisce negativamente sui tassi di fecondazione e gravidanza ma i bambini nati non mostrano differenze con la popolazione generale.



Results of intracytoplasmic sperm injection performed with sperm retrieved by microscopic testicular sperm extraction in azoospermic patients

Erkan Erdem¹ , Meriç Karacan² , Ziya Çebi² , Murat Uluğ³ , Ayşe Arvas³ , Teksen Çamlıbel²

342 pazienti azoospermici:

- 117 OA
- 225 NOA

Se con la microTESE si recuperano spermatozoi motili 1 coppia su 4 riesce ad ottenere un nato vivo senza differenza significativa tra azoospermici ostruttivi e non ostruttivi.

Table 1. Comparative data of the patients

| | OA patients (n=117) | NOA patients (n=225) | p |
|------------------------------------|------------------------|-------------------------|-------|
| Male partner, age (years) | 34.2±5.4 | 35.3±3.4 | >0.05 |
| Female partner (years) | 30.3±2.9 | 30.6±3.3 | >0.05 |
| Duration of infertility (months) | 28.2±7.8 | 30.3±6.5 | >0.05 |
| Testicular volume (mL) | 12.5±2.6 | 9.8±3.4 | >0.05 |
| FSH values (mIU/mL) | 11.7±3.7 | 13.7±5.4 | >0.05 |
| Motile sperm retrieval rate | 117 (100%) | 118 (52.4%) | <0.05 |
| Clinical pregnancy rate after ICSI | 35 (29.9%) | 32 (27.1%) | >0.05 |
| Live birth rate after ICSI | 30 (25.6%) | 27 (23.7%) | >0.05 |

OA: obstructive azoospermia; NOA: non-obstructive azoospermia; FSH: Follicle stimulating hormone; ICSI: intracytoplasmic sperm injection



OUTCOME DELLA ICSI CON SPERMATOZOI RECUPERATI CHIRURGICAMENTE: I NOSTRI RISULTATI



I nostri risultati

| | |
|------------------------------|--------------|
| Pick Up | 56 |
| Embryo Transfer | 34 |
| Gravidanze | 9 |
| % Gravidanza/ET | 26,5% |
| Tasso di fecondazione | 49.1% |



| | |
|----------------------|-----------|
| TESE A FRESCO | 8 |
| TESE CRIO | 7 |
| microTESE | 41 |



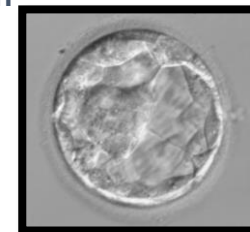
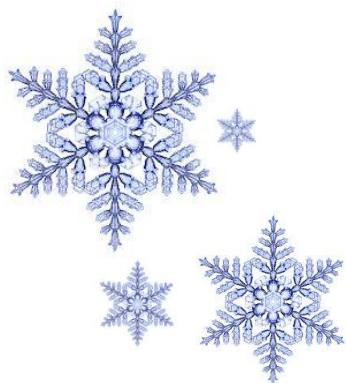
Suddivisione della casistica in base al numero di ovociti recuperati il giorno del Pick Up

| | < 7 ovociti recuperati | ≥ 7 ovociti recuperati |
|-------------------------|------------------------|------------------------|
| Pick Up | 30 | 26 |
| Embryo Transfer | 19 | 15 |
| Gravidanze | 3 | 6 |
| Fertilization Rate | 35,9% | 49,8% |
| Clinical Pregnancy Rate | 15,8% | 40% |
| Età media | 35 (25-41) | 32,2 (24-37) |

Il 50% dei mancati transfer è dovuto a crioconservazione embrionaria per motivi medici

| Mancati Embryo Transfer | <7 ovociti recuperati | ≥ 7 ovociti recuperati | TOT |
|---|-----------------------|------------------------|-----------|
| Mancata fecondazione | 9 (100%) | / | 9 (40.9%) |
| Arresto dello sviluppo embrionario | / | 2 (100%) | 2 (9%) |
| Crioconservazione per endometrio inadeguato | 2 (33%) | 4 (66%) | 6 (27.2%) |
| Crioconservazione per rischio OHSS | / | 5 (100%) | 5 (22.7%) |

A seguito di scongelamento e successivo Embryo Transfer si sono ottenute altre 5 gravidanze, portando il successo totale della ICSI a **31,1%** (14grav/45ET)



Suddivisione della casistica in base al numero di spermatozoi osservati al momento del prelievo testicolare

| | < 100spz/mm ³ | ≥ 100spz/mm ³ |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pick Up | 29 | 27 |
| Embryo Transfer | 18 | 16 |
| Gravidanze | 4 | 5 |
| Fertilization Rate | 37,0% | 51,3% |
| Clinical Pregnancy Rate | 22,2% | 31,2% |
| Età media | 34,2 (25-41) | 33,1(24-37) |

Conferma la correlazione inversa tra qualità funzionale degli spermatozoi e danno istologico testicolare



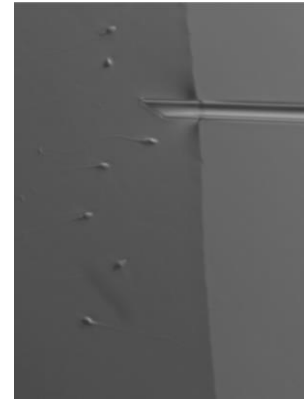


OUTCOME DELLA ICSI CON SPERMATOZOI RECUPERATI CHIRURGICAMENTE: CRITICITA' E OTTIMIZZAZIONE

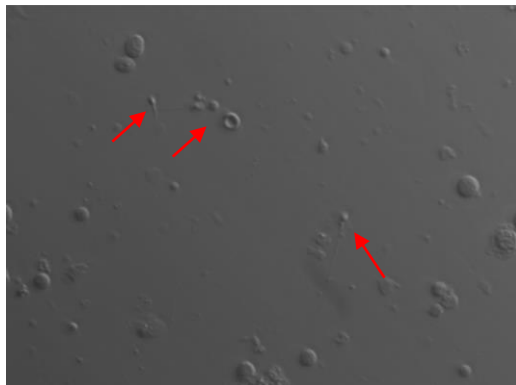


Possibili problematiche embriologiche nell'utilizzo di spermatozoi recuperati chirurgicamente

- Possibile discordanza tra il numero di spermatozoi osservati in sala operatoria al momento del prelievo testicolare e l'osservazione all'invertoscopio al momento dello scongelamento delle paillette e del recupero per ICSI
- Possibile discordanza tra la qualità osservata al momento del recupero testicolare e la qualità osservata al momento dell'utilizzo per la ICSI



Danni da crioconservazione
Danni da trattamento con Venflon



Possibili problematiche embriologiche nell'utilizzo di spermatozoi recuperati chirurgicamente

- Difficoltà nell'organizzare corretto timing del Pick Up ovocitario in caso di recupero chirurgico a fresco
- Decisione del numero di paillette di materiale testicolare da scongelare in relazione a:
 - ✓ preziosità del campione crioconservato
 - ✓ concentrazione degli spermatozoi
 - ✓ numero di ovociti recuperati al Pick Up
- Tempo di ricerca degli spermatozoi adeguato alla criticità del campione da "incastrare" nell'attività di routine del Laboratorio di Embriologia
- Necessità di dover impiegare 2 operatori nella ricerca degli spermatozoi nei casi più impegnativi



Criteri di selezione degli spermatozoi recuperati chirurgicamente

- Presenza di spermatozoi prevalentemente immotili allo scongelamento che determinano spesso fecondazione DIMINUITA o ASSENTE
- Necessità di selezionare spermatozoi VITALI in caso di assoluta astenozoospermia



Approccio biochimico
Approccio biofisico

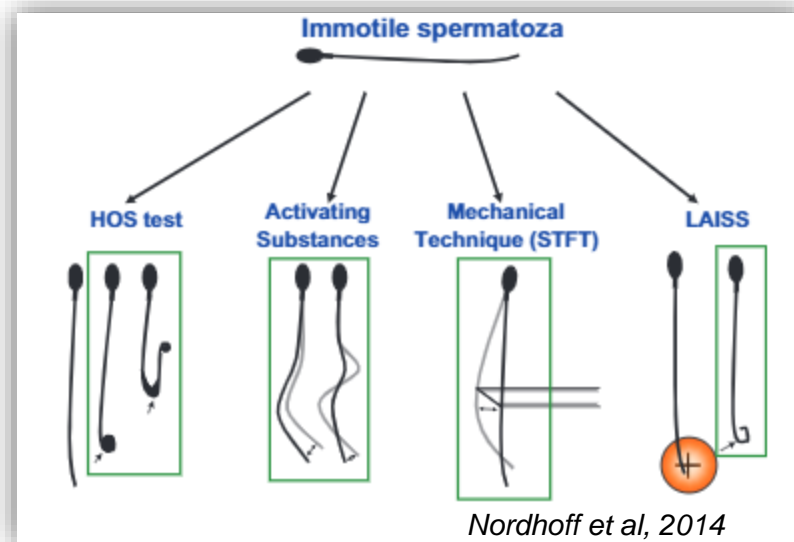


Table 1 Comparison of the different immotile spermatozoa selection test and their advantages, disadvantages and their success rates according to the literature

| | Possible sperm type | Advantage | Disadvantage | References |
|---|---|--|--|--|
| Hypo-osmotic swelling test | <ul style="list-style-type: none"> • Native ejaculate • Testicular spermatozoa extraction (TESE) spermatozoa (fresh or frozen) • Immotile cilia syndrome | <ul style="list-style-type: none"> • Easy recognisability of viable spermatozoa | <ul style="list-style-type: none"> • Time consuming • Important to have low exposing time to the hypo-osmotic medium! • Possible steric problems after exposure • Solutions have to be bought • Not suitable for cryopreserved ejaculated spermatozoa | <p>Jeyendran <i>et al.</i> (1984) Carreras <i>et al.</i> (1992) Barros <i>et al.</i> (1997) Liu <i>et al.</i> (1997) Ved <i>et al.</i> (1997) Sallam <i>et al.</i> (2001) Sallam <i>et al.</i> (2005) Mangoli <i>et al.</i> (2010) Bollendorf <i>et al.</i> (2012) Esteves & Varghese, (2012) <i>Immotile cilia:</i> Westlander <i>et al.</i> (2003) Kordus <i>et al.</i> (2008) Hossain <i>et al.</i> (2010) Geber <i>et al.</i> (2012) Yovich <i>et al.</i> (1988)</p> |
| Chemical compounds (pentoxifylline, theophylline) | <ul style="list-style-type: none"> • Native ejaculate • Cryopreserved ejaculated spermatozoa • TESE spermatozoa (fresh or frozen) • Immotile cilia syndrome | <ul style="list-style-type: none"> • Quick identification of motile spermatozoa | <ul style="list-style-type: none"> • Incubation time • Solutions have to be bought • Possible negative side effects on further development in human? | <p>Mladenovic <i>et al.</i> (1994) Barros <i>et al.</i> (1997) Tasdemir <i>et al.</i> (1998) Nassar <i>et al.</i> (1999) Terriou <i>et al.</i> (2000) Griveau <i>et al.</i> (2006) Kovacic <i>et al.</i> (2006) Mangoli <i>et al.</i> (2010) Ebner <i>et al.</i> (2011) <i>Immotile cilia:</i> Yildirim <i>et al.</i> (2009) Soares <i>et al.</i> (2003) de Oliveira <i>et al.</i> (2004)</p> |
| Sperm tail flexibility test | <ul style="list-style-type: none"> • Native ejaculate • TESE sperm (fresh or frozen) | <ul style="list-style-type: none"> • Quick technique • No need for further equipment | <ul style="list-style-type: none"> • Only for experienced lab personnel suitable • Not suitable for cryopreserved ejaculated spermatozoa | <p>Soares <i>et al.</i> (2003) de Oliveira <i>et al.</i> (2004)</p> |
| Laser assisted immotile sperm selection | <ul style="list-style-type: none"> • Native ejaculate • Cryopreserved ejaculated spermatozoa • TESE spermatozoa (fresh or frozen) • Immotile cilia syndrome | <ul style="list-style-type: none"> • Quick and easy technique | <ul style="list-style-type: none"> • ICSI microscope has to be equipped with a laser • 40x Laser objective for analysis required • Experienced lab personnel | <p>Aktan <i>et al.</i> (2004) Nordhoff <i>et al.</i> (2013) <i>Immotile cilia:</i> Gerber <i>et al.</i> (2008)</p> |

Criteri di selezione degli spermatozoi recuperati chirurgicamente

HYPO-OSMOTIC SWELLING TEST (HOS)

Test sicuro e ripetibile per l'identificazione di spermatozoi vitali ed intatti esponendoli a condizioni ipo-osmotiche.

Possibili problemi sterici e falsi positivi o negativi (*Barros et al., 1997*)

Tecnica laboriosa, che può essere utilizzata anche su spermatozoi recuperati chirurgicamente (*Sallam et al., 2012*), ma non su spermatozoi crioconservati e scongelati in quanto si può verificare un rigonfiamento spontaneo della coda. (*Hossain et al., 2010*)

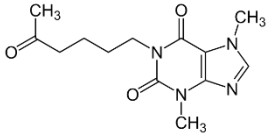
HOS test



Un confronto tra HOS e trattamento con pentossifillina nei campioni da TESE ha mostrato un minor tasso di fecondazione e di gravidanza nei campioni trattati con HOS. (*Mangoli et al., 2011*)

Criteri di selezione degli spermatozoi recuperati chirurgicamente

TRATTAMENTO CON PENTOSSIFILLINA O TEOFILLINA



Derivati della Metilxantina, inibitore non selettivo della fosfodiesterasi (PDE) che agisce aumentando l'azione di cAMP intracellulare.

Nello spermatozoo agisce sul pathway dell'AMP ciclico inducendo una fosforilazione delle proteine della coda stimolandone la motilità.

I cicli di ICSI con spermatozoi testicolari ed epididimari immotili trattati con pentossifillina mostrano outcome sovrapponibili ai cicli di ICSI con spermatozoi motili (*Terriou et al. 2000, Griveau et al. 2006*)

Si dimostra superiore rispetto allo swelling test (HOS) nella selezione di spermatozoi testicolari in termini di tassi di fecondazione e gravidanza.

Criteri di selezione degli spermatozoi recuperati chirurgicamente

TRATTAMENTO CON PENTOSSIFILLINA O TEOFILLINA

Il tempo di incubazione e di azione varia a seconda
della concentrazione utilizzata.



Importante tenerne conto nella
programmazione delle attività di
laboratorio!



Recenti studi hanno dimostrato che non ci sono
effetti avversi sugli outcome ostetrici e neonatali
dopo l'uso di pentossifillina (Navas et al. 2017).

Criteri di selezione degli spermatozoi recuperati chirurgicamente

SPERM TAIL FLEXIBILITY TEST (STFT)

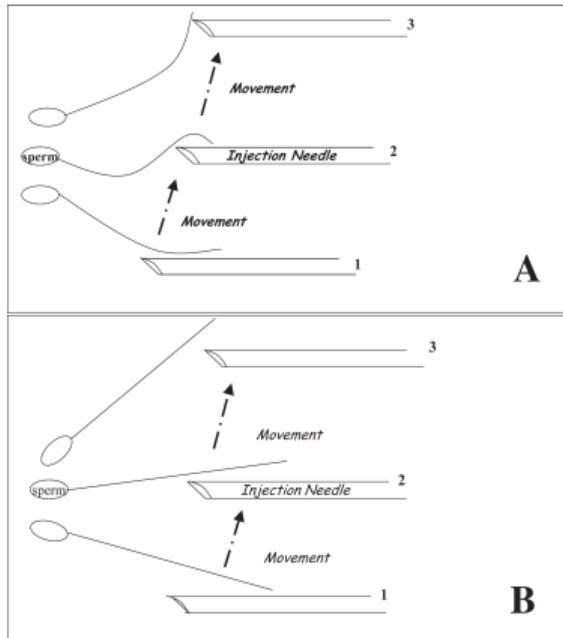


Figure 1 - A) Sperm tail flexibility test (STFT)-positive result; B) STFT-negative result.

Gli spermatozoi immotili ma vitali hanno una coda flessibile (Soares et al.,2003)

Se la coda si piega e recupera la sua posizione originale è considerato vitale, mentre rigidità e incapacità di recuperare la posizione iniziale è considerato segno di non vitalità.

Tecnica che richiede grande esperienza e capacità da parte del personale di laboratorio.

Non ottimale per spermatozoi crioconservati, che mostrano arricciamento spontaneo della coda (Nordhoff, 2015)

Criteri di selezione degli spermatozoi recuperati chirurgicamente

LASER SHOT SYSTEM (LAISS)

La tecnica prevede di colpire la punta del flagello dello spermatozoo con un laser, che in uno spermatozoo immotile, ma vitale, dovrebbe causare l'arricciamento della coda nel sito di impatto. *(Aktan et al., 2004)*

Tecnica veloce, facile e ripetibile ma che richiede il possesso del laser e grande expertise del personale di laboratorio.



Conclusioni

Il metodo di estrazione degli spermatozoi non influisce sugli outcome della ICSI, ma impatta sicuramente sullo Sperm Retrieval Rate (SRR).

I pazienti affetti da azoospermia non ostruttiva dovrebbero essere informati che le possibilità di SSR positivo, anche quando è disponibile il metodo di recupero ottimale (microTESE), e la conseguente possibilità di avere un nato vivo con ICSI sono correlate al loro tipo di azoospermia.

Conclusioni

I pazienti OA hanno risultati sovrapponibili ai donatori, indicando che l'integrità degli spermatozoi è conservata.

Nei NOA invece gli outcome della ICSI sono negativamente influenzati dal fallimento testicolare per rischio aumentato di essere portatori di difetti a livello dei centrioli e del materiale genetico che sono associati a basso tasso di clivaggio dello zigote e sviluppo embrionale.

Conclusioni

Una volta ottenuta la gravidanza evolutiva, la prole non mostra differenze rispetto alla popolazione generale dei bambini nati da ICSI.

I dati disponibili al momento sono rassicuranti ma la popolazione analizzata è limitata e necessita di continuo monitoraggio.

Mancano inoltre studi sullo sviluppo fisico e neurologico-comportamentale dei bambini nati da spermatozoi recuperati chirurgicamente.

Prima della AID, se il paziente è debitamente informato, un ciclo di ICSI-TESE è una valida opzione.

Grazie per l'attenzione

