T.C.
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üroloji Anabilim Dalı

NONOBSTRÜKTİF AZOSPERMİLİ HASTALARDA MİKROCERRAHİ TESTİKÜLER SPERM EKSTRAKSİYONU YÖNTEMİ İLE SPERM ELDE ETMEYİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Dr. Erdem KOÇ

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Özkan POLAT

ERZURUM-2015

ONAY

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Başkanlığının 26.12.2014 tarih ve 307 sayılı kararı ile **"NONOBSTRÜKTİF AZOSPERMİLİ HASTALARDA MİKROCERRAHİ TESTİKÜLER SPERM EKSTRAKSİYONU YÖNTEMİ İLE SPERM ELDE ETMEYİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER**" adlı tez konusunun araştırma görevlisi Dr. Erdem KOÇ tarafından çalışılması uygun görülmüş Etik Kurul onayına sunulmuştur. Etik Kurul 19.02.2015 tarih ve 1 sayılı oturum ve 29 no'lu kararı ve Cerrahi Tıp Bilimleri Bölüm Kurulu'nun 10.02.2015 tarih ve 1 sayılı oturum 2 no'lu kararı ile tez çalışması olarak uygun olduğuna karar verilmiştir.

T.C
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğü
Üroloji Anabilim Dalı

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

"Nonobstrüktif Azospermili Hastalarda Mikrocerrahi Testiküler Sperm Ekstraksiyonu Yöntemi ile Sperm Elde Etmeyi Etkileyen Faktörler"
Dr.Erdem KOÇ

Uzmanlık Eğitimine Başlama Tarihi : 04.08.2010

Uzmanlık Eğitimini Bitirme Tarihi : 28.12.2015

Uzmanlık Sınavı Tarihi : 29.12.2015

Tez Danışmanı : Prof.Dr.Özkan POLAT

Jüri üyesi : Prof.Dr.Azam DEMİREL

Jüri üyesi : Prof .Dr. İrfan ORHAN

Jüri üyesi :

Jüri üyesi :

Jüri üyesi :

Prof. Dr. Azam DEMİREL
Üroloji Anabilim Dalı Başkanı

ARALIK-2015
ERZURUM

İÇİNDEKİLER

ONAY ..... **İ**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **Vİ**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **Vİİ**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **Viİİ**
TEŞEKKÜR ..... **İX**
ÖZET ..... **X**
ABSTRACT ..... **Xİİ**
1. GİRİŞ VE AMAÇ **1**
2. GENEL BİLGİLER **2**
2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi 2
2.1.1. Penis 2
2.1.2. Skrotum 3
2.1.3. Testis 3
2.1.4. Epididim 5
2.1.5. Funikulus Spermatikus 5
2.1.6. Vaz Deferens 5
2.1.7. Glandula Seminalis 6
2.1.8. Glandula Prostatika 6
2.1.9. Glandula Bulbouretralis 6
2.2. Erkek Reprodüktif Fizyolojisi 7
2.2.1. Hipotalamus 7
2.2.1.1. GnRH 7
2.2.1.2. GnRH Salınımını Etkileyen Faktörler 8
2.2.2. Ön Hipofiz 9
2.2.3. Testis 10
2.2.4. HHG Aksının Gelişimi 11
2.3. Ürogenital Sistemin Gelişimi 12
2.4. Testisin Mikroskopik Yapısı 13
2.4.1. Leydig Hücreleri 13
2.4.2. Sertoli Hücreleri 13

2.4.3. Germ Hücreleri 14
2.4.3.1. Spermatozoa 15
2.5. Erkek İnfertilitesi 16
2.5.1. Öykü 16
2.5.2. Fizik Muayene 20
2.5.2.1. Genel Vücut Bakısı 20
2.5.2.2. Genital Bakı 21
2.5.3. Laboratuar Testleri 22
2.5.3.1. Semen Analizi 22
2.5.3.1.1. Makroskopik İnceleme 23
2.5.3.1.2. Mikroskopik İnceleme 23
2.5.4. Endokrin Değerlendirme 25
2.5.4.1. Erkek İnfertilitesinde Endokrin Nedenlerinin Ayırıcı Tanısı 26
2.5.5. Genetik Testler 27
2.5.5.1. Kleinefelter Sendromu (KS) 27
2.5.5.2.Y Kromozomu Mikrodelesyonları 28
2.5.5.3. CFTR (Kistik fibrozis transmembran regülatör) Gen Analizi 29
2.6. Testis Biyopsilerinin Değerlendirilmesi 30
2.7. Azospermik Hastanın Değerlendirilmesi 31
2.8. Sperm Elde Etmede Kullanılan Yöntemler 32
2.8.1. Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA) 33
2.8.2. Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA) 33
2.8.3. Konvansiyonel Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (cTESE) 33
2.8.4. Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu (MESA) 34
2.8.5. Mikrocerrahi Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (mTESE) 34
2.9. mTESE'de Sperm Elde Etme Başarısını Etkileyen Prediktif Faktörler 35
2.9.1. FSH 35
2.9.2. İnhibin B 36
2.9.3. Testis Volümü 37
2.9.4. Genetik 37
2.9.5. Klinefelter Sendromu (KS) 37
2.9.6. Kriptorşidizm 38

2.9.7. Varikosel 38
2.9.8. Histopatoloji 38
3. MATERYAL VE METHOD 40
4. BULGULAR 43
5. TARTIŞMA 47
6. SONUÇ 54
KAYNAKLAR 55

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Subfertil Erkeğin Değerlendirilmesinde Öykü..... 17

Tablo 2. WHO 2010 Semen Analizi Referans Aralıkları..... 25

Tablo 3. mTESE ile Sperm Elde Edilebilen (Sperm (+)) ve Sperm Elde Edilemeyen (Sperm (-)) Gruplar Arasında FSH, LH, PRL ve T Düzeyleri, Yaş, Testis Volümü, İnfertilite Süresi Ortalamalarının Kıyaslanması (p<0,05 İstatistiksel Olarak Anlamlıdır)..... 44

Tablo 4. Testis Boyutu Normal Olan (≥15 ml) ve Olmayan (<15 ml) Grupların FSH ve LH Ortalama Değerlerinin Kıyaslanması (p<0,05 İstatistiksel Olarak Anlamlıdır)..... 44

Tablo 5. Histopatolojik Tanıların (Hipospermatogenez, Sertoli Cell Only Sendromu ve Matürasyon Arresti), mTESE'de Sperm Elde Edilen ve Edilemeyen Gruplar Arasında Kıyaslanması (p<0,05 İstatistiksel Olarak Anlamlıdır)..... 45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. HHG Aksı. Hipotalamustan Salgılanan GnRH, Hipofiz Bezinden FSH ve LH Salınımını Uyarır. LH, Leydig Hücrelerinden T Salınımını Sağlarken, FSH İse Sertoli Hücrelerini Uyararak Spermatogenezin Uyarılmasını Sağlar. Testislerden Salınan Testesteron ve İnhibin B, Gonadotropin Salınımını İnhibe Eder (Campbell-Walsh Urology, 10. Baskı, Bölüm 7, Kısım 21, syf: 627, 2011). 9

Şekil 2. Azospermi Faktörü ve Y Kromozomu (Campbell-Walsh Urology, 10. Baskı, Bölüm 7, Kısım 21, syf: 641, 2011)..... 29

Şekil 3. Kliniğimizde mTESE Operasyonunda Çekilen Bir Görüntü. Ok ile Gösterilen Alanlar, Dilate ve Parlak Görünümlü Seminifer Tübüllerini Göstermektedir..... 41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

NOA	: Nonobstruktif azospermi
HHG	: Hipotalamo-hipofizer-gonadal
GnRH	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
LH	: Lüteinize edici Hormon
FSH	: Folikül Stimülan Hormon
T	: Testosteron
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
E2	: Östradiol
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
SCO	: Sertoli Cell Only
BPH	: Benign Prostat Hiperplazisi
KBVDY	: Konjenital Bilateral Vaz Deferens Yokluğu
KS	: Klinefelter Sendromu
TSH	: Tiroid Stimülan Hormon
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
mTESE	: Mikro Testiküler Sperm Ekstraksiyonu
CFTR	: Kistik Fibrozis Transmembran Regülatör
HH	: Hipogonadotropik Hipogonadizm
AZF	: Azospermik Faktör
PRL	: Prolaktin
DHT	: Dihidrotestosteron
ITT	: İntratestiküler testosteron
Ctese	: Konvansiyonel Testiküler Sperm Ektraksiyonu
OA	: Obstruktif Azospermi

TEŞEKKÜR

Asistanlık hayatım süresince daima büyük bir hoşgörü ve özveri ile tüm tıbbi birikim ve sanatını öğretmeye çalışan, ancak daha da önemlisi iyi bir hekim olmanın yanında iyi bir insan olmayı da sabırla öğreten, eğitimime büyük katkıda bulunan, tezimin hazırlanmasında her aşamada bana yardımcı olan, bilimsel eleştirilerini esirgemeyen tez danışmanı hocam sayın Prof. Dr. Özkan POLAT'a teşekkür ederim. Ayrıca Anabilim Dalı Eski Başkanımız sayın Prof. Dr. Güray OKYAR'a ve sayın hocalarım Prof. Dr. Azam DEMİREL'e, Prof. Dr. İsa ÖZBEY'e, Prof. Dr. Yılmaz AKSOY'a, Doç. Dr. Turgut YAPANOĞLU'na, Doç. Dr. Tevfik ZİYPAK'a ve Doç. Dr. Şenol ADANUR'a teşekkür ederim.

Her zaman birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve ihtisas süremi birlikte geçirdiğim asistan arkadaşlarıma, servis hemşirelerimize ve tüm personel arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayat boyu benden desteklerini esirgemeyen aileme ve her an yanımda olan sevgili eşime ve tezimi hazırlarken bana enerji ve çalışma azmi veren oğluma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Erdem KOÇ

ÖZET

Giriş ve Amaç: Çalışmamızda nonobstrüktif azospermili (NOA) hastalarda, yüksek başarı ve düşük komplikasyon oranları ile günümüzde altın standart yöntem haline gelen mikrocerrahi testiküler sperm ekstraksiyonu yöntemi ile sperm elde edilmesini etkileyen faktörleri ortaya koymayı amaçladık.

Materyal ve Metod: Çalışmamız prospektif bir çalışma olup, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezine 01.06.2013 ile 01.06.2015 tarihleri arasında yardımcı üreme teknikleri için (YÜT) başvuran ve erkek partnerde NOA saptanan 102 hasta çalışmaya dahil edildi. Detaylı öykü ve fizik muayene sonrasında hastaların testis volümleri, FSH, LH, PRL ve testosteron (T) plazma düzeyleri ölçüldü, karyotip analizleri ve Y kromozom mikrodelesyonları açısından genetik incelemeleri yapıldı. Tüm hastalara aynı ameliyat ekibi tarafından mTESE operasyonu uygulanarak, tüm hastalardan alınan dokular aynı embriyolog tarafından değerlendirildi. mTESE sırasında testiküler histopatolojik değerlendirme için tüm hastalardan testiküler doku örneği alındı. Daha sonra hastalar mTESE ile sperm elde edilen ve sperm elde edilemeyen hastalar olarak iki gruba bölündü ve bu iki grup testis volümleri, hasta yaşları, serum T, LH, FSH, PRL düzeyleri, karyotip analizleri, AZF mikrodelesyonu olup olmaması ve testiküler histopatoloji açısından karşılaştırıldı. Verilerin analizinde SPSS v20 programı kullanıldı. Analizlerde $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen 102 hastanın, mTESE ile, 64'ünde (%62,7) sperm bulundu, 38'inde ise (%37,3) sperm bulunamadı. Çalışmamızda mTESE ile sperm elde edilen ve edilemeyen gruplar arasında median FSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunmuştur ($p=0,004$). mTESE sırasında alınan örneklerin histopatolojileri hipospermatogenez, sertoli cell only ve matürasyon arresti tanılarıyla raporlanmış olup, bu üç grup arasında mTESE sonucu sperm bulunma durumları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır ($p<0,001$). Sperm bulunan ve bulunmayan grupta ortalama testis volümleri kıyaslandığı zaman, bu iki grubun medyanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptandı ($p=0,029$). Ek olarak testis boyutunun 15 ml ve üzerinde

olması normal kabul edilerek yapılan gruplamada, testis boyutu normal olan ve olmayan gruplar arasında FSH ve LH medyanları açısından anlamlı fark olduğu saptandı ($p<0,05$). Serum T düzeyleri açısından ise mTESE ile sperm elde edilen ve edilemeyen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,504$). Çalışmamıza dahil edilen 102 hasta, mTESE yapılma tarihlerine göre iki gruba bölündüğünde, mTESE ile sperm elde etme oranları bakımından bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Günümüzde mTESE yöntemiyle sperm elde etme başarısını öngörmede tek başına kullanılabilecek bir parametre veya değişken henüz bulunmamaktadır. Bununla birlikte, klinikte birden fazla değişkenin kombinasyonu kullanılarak preoperatif bir değerlendirme yapılması, hem mTESE yöntemiyle sperm elde etme başarısını öngörmede cerrah açısından yönlendirici olmaktadır hem de infertil çiftlerin beklentilerini karşılayabilmek açısından yol göstericidir.

Anahtar Kelimeler: mTESE, nonobstrüktif azospermi, FSH, testiküler histopatoloji.

ABSTRACT

Introduction and Objective: In our study, we aimed to demonstrate the predictive factors in success of mTESE which become the gold standard method of obtaining sperm in nonobstructive azoospermia (NOA) patients currently with high success and low complication rates.

Materials and Methods: Our study design is prospective, including 102 nonobstructive azoospermia patients as the male partner applied to Atatürk University Medical Faculty Research Hospital IVF Centre between the dates from 06/01/2013 to 01/06/2015 for the assisted reproductive techniques (ART). After obtaining detailed anamnesis and making detailed physical examination; measurement of testicular volumes, serum FSH, LH, PRL and T levels, Y chromosome karyotype and microdeletion analysis and genetic studies were performed to all patients participating in our study. mTESE was applied to all patients by same surgical team and specimens were evaluated by same embryologist. Testicular tissue samples were taken from all patients intraoperatively for histopathological evaluation. According to the mTESE results, patients were divided to two groups according to sperm retrieval was succesful or not. Testicular volumes, age of patients, serum FSH, LH, PRL and T levels, histopathological evaluation results, Y chromosome karyotype and microdeletion analysis and genetic studies were compared between these two groups. SPSS v20 software was used to analyze the data. Analysis of $p<0.05$ was considered statistically significant.

Findings: Sperm extraction with mTESE was succesful in 64 patients (62.7%) and failed in 38 patients (37,3%) of 102 patients participating in our study. Statistically significant difference was found in terms of the median FSH levels between two groups that sperm retrieval was succesful or not with mTESE ($p=0.004$). Histopathology of the samples taken during mTESE were reported as hypospermatogenesis, Sertoli cell only syndrome and maturation arrest and statistically significant difference was found in terms of comparision between these three groups ($p<0.001$). According to comparision between mean testicular volume of the two groups, statistically significant difference was found in terms of the

median testicular volumes (p=0.029). Additionally, when testicular volume is equal to or more than 15 ml was assumed as the group with normal testicular volume, median serum FSH and LH levels were found statistically significantly different between the group with normal testicular volume and the group with not (p<0.05). Mean serum T levels did not represent a statistically significant difference between two groups that sperm retrieval was succesful or not with mTESE (p=0.504). When the 102 patient included in our study were divided into two groups according to the date of mTESE performance, sperm retrival rates with mTESE were not statistically significiantly different between the two groups (p>0,05).

Results: There is not yet an individual parameter or variable defined for predicting the outcomes and success rates of sperm retrieval with mTESE. However, preoperative evaluation performed by using combination of multiple variables in the clinic provides the surgeon to predict the success of sperm retrieval with mTESE and serves as a guide in terms to meet the expectations of infertile couples.

Keywords: mTESE, nonobstructive azoospermia, FSH, testicular histopathology.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Normal bir kadın partner varlığında vajinal yoldan normal sıklıkta ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen 12 ay içerisinde gebeliğe ulaşılamaması durumuna "infertilite" denir. Dünya çapındaki prevalansının %10-15 olduğu tahmin edilmektedir [1, 2]. İnfertil erkeklerin %10-15'inde, genel toplumun ise %1'inde infertilite etiyolojisinde azospermi bulunmaktadır [1, 2]. Azospermi iki grupta incelenir; obstrüktif azospermi ve nonobstrüktif azospermi (NOA). Azospermili hastaların %60'ını NOA hastaları oluşturmaktadır [3]. NOA'nın etyolojisinde genetik bozukluklar (örneğin seks kromozomu anomalileri), Y kromozomundaki translokasyonlar ve mikrodelesyonlar, kriptorşitizm, torsiyon, radyasyon, toksinler, varikosel ve idiyopatik nedenler yer almaktadır [4, 5]. Obstrüktif azospermide altta yatan patolojilerin düzeltilebilmesi çoğunlukla mümkün iken, NOA'de konsepsiyon sağlanabilmesi için yardımcı üreme tekniklerinin kullanılması şarttır [6, 7].

mTESE ilk olarak 1999'da Shlegel ve Li tarafından tanımlanmış bir tekniktir [8]. NOA hastalarında mTESE ile sperm elde etme oranı %35 ile %75 arasında değişmektedir [8-12]. Ek olarak, intraoperatif ve postoperatif komplikasyonların en az görüldüğü teknik de mTESE'dir [10, 13, 14].

Günümüzde mTESE öncesi testislerde spermatozoa olup olmadığını tek başına gösterecek kesin bir parametre olmamakla birlikte bazı klinik ve laboratuar verilerine bakılarak mTESE' de sperm bulma ihtimalini öngörecek çeşitli parametreler geliştirilmiş ve halen geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Çalışmamızda NOA hastalarında mTESE ile sperm elde etme başarısını etkileyen faktörleri ortaya koymayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi

Erkek üreme sistemi organları dış ve iç genital organlar olarak iki kısıma ayrılır;

Dış genital organlar → Penis, skrotum.

İç genital organlar → Testis, epididim, funikulus spermatikus, duktus deferens, glandula vesikuloza, glandula prostatika, glandula bulboüretralis, ejekulat, duktus ejekulatorius.

2.1.1. Penis

Radix penis ve korpus penis olarak iki parçadan oluşan penis, ligamentum fundiforme penis ve ligamentum suspensorium penis ile karın ön duvarına asılır. Radix penis, bulbus penis ve crus penis olarak iki kısımdan oluşur. Bulbus penis, korpus spongiosum penisin genişlemiş olan arka bölümüdür ve üretra bu kısmın içinden geçer. Krus penis, korpus kavernosum penisin arkasında bulunan bir çift erektil yapıdan oluşur. Korpus penis, 1 adet korpus spongiosum penis ve bir çift korpus kovernosum penisten oluşur. Erektil fonksiyona sahip bu yapılar içte tunika albuginea dışta ise derin penil (buck) fasyası ile sarılıdır. Korpus spongiosum distalde genişler ve glans penisi oluşturur. Penil şaftın derisi oldukça elastik ve yağdan fakir bir yapıdadır, kıl ve glandüler yapılar içermez. Penil şaftın derisi, yüzeyel penil (dartos) fasyaya gevşek bağlandığından oldukça hareketlidir.

Penis derisi, erektil yapılardan bağımsız olarak femoral arterin eksternal pudendal dallarından beslenir. Ana penil arter erektil yapıları beslemek için 3 dala ayrılır; bulboüretral arter, kavernözal arter ve dorsal penil arter. Glans penisin tabanında çok sayıda venöz dallar bir araya gelerek penisin dorsal venini oluşturur. Penil dorsal ven, korpus kavernosumlar arasında seyrettikten sonra preprostatik plexusa drene olur.

Nervus dorsalis penis, penisin duyusal innervasyonunu sağlar. Penisin ventrolaterali boyunca dorsal arterlerin yönünde seyreder ve glansı yoğun bir şekilde besler.

2.1.2. Skrotum

İçinde funikulus spermatikusun bir bölümü, testis ve epididim bulunan, kıl folikülleri barındıran, yağdan fakir, sebase bezler ve ter bezlerinden zengin, torba şeklinde bir yapıdır.

Skrotum tabakaları (dıştan içe);

1- Deri,
2- Tunika dartos,
3- Fasya spermatica eksterna; eksternal oblik fasyadan kaynaklanır,
4- Fasya cremasterica ve muskulus cremaster; internal oblik kastan köken alır,
5- Fasya spermatica interna; transvers fasyanın devamıdır,
6- Tunika vajinalis testisin pariyatel yaprağı, olarak sıralanır.

Skrotumun ön duvarı eksternal pudendal damarlarla beslenir, ilioinguinal ve genitofemoral sinirlerle innerve edilir. Anterior duvarı besleyen damarlar ve sinirler skrotum kıvrımlarına paralel olarak seyreder ve rapheyi geçmezler, bu nedenle tranvers ve raphe insizyonları kanamanın en az olduğu insizyonlardır. Skrotumun arka yüzü, perineal damarların ve sinirlerin posterior skrotal dallarıyla beslenir ve innerve edilir.

2.1.3. Testis

Testisler; funikulus spermatikus ile asılı, 4-5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde ve 2,5 cm kalınlığında bir çift organdır.

Testisin 3 tabakası vardır:

1- Viseral tunika vajinalis
2- Tunika vaskuloza
3- Tunika albuginea

Tunika albuginea, testisin arka kenarından testis dokusu içine mediastinum testis olarak isimlendirilen vertikal yarım bir bölge gönderir. Mediastinum, testis parankimine gönderdiği septalarla testisi lobuli testislere böler. Lobüllerin içindeki seminifer tübüller, lobüllerin tepelerine doğru kıvrımlarını kaybedip düzleşir ve mediastinumda birleşerek rete testisi oluşturur. Burada birleşen seminifer tübüller, 15-20 adet efferent duktus halinde epididimin kaput kısmına gelir. Epididimin kuyruğuna doğru ilerledikçe çapı ve kalınlığı artarak vaz deferens meydana gelir.

Testisler aorta abdominalisten ayrılan testiküler arterle beslenir. A.testikülaris dışında kollateral kanlanmayı sağlayan damarlar da vardır:

- A. duktus deferentis (a. iliaca' nın dalı)
- A. kremasterica (a. epigastirica inferiordan gelir)
- Aa. pudenta eksterna (a. femoralisten gelen dallar)

Testiküler arter testise giriş yolunda internal arter, inferior testiküler arter ve epididim başına giden kapital arter olmak üzere dallara ayrılır. Testisin venöz dönüşü vena testicularis ile olur. Sağ tarafta v. cava inferior' a, solda v. renalis' e dökülür. Testiküler venler, testiküler arterin çevresinde pampiniform plexus denilen oldukça yoğun bir venöz anastomoz oluşturur. Testisin arter ve venlerinin bu şekilde bir arada ilerlemesi, ters akım ısı değişim mekanizması ile testisin sıcaklığının düşük tutulmasına yardımcı olur. Testisin lenfatik akımı doğrudan paraaortik lenf nodlarına ulaşır.

2.1.4. Epididim

Epididim, testisin posterolateral tarafında bulunan, 4 cm uzunluğunda, virgül şeklinde bir organdır. Epididim; kaput, korpus ve kauda olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Kauda kısmı, testisin inferior kısmındadır ve duktus deferens ile devamlılık gösterir. Testislerde gelişimini tamamlayan spermler, epididimde olgunlaşmasının son safhasını tamamlar ve depolanır. Olgunlaşmasının son safhasında hücre zarı yapısal bütünlüğünde düzelme, motilitede iyileşme ve fertilizasyon yeteneğinde artma sağlanır. Spermler testiste çok az hareketli veya hareketsiz olarak bulunurlar ve hareket yeteneğini epididimde kazanırlar.

2.1.5. Funikulus Spermatikus

Duktus deferens; testisin damarlarını ve sinirlerini içeren, anulus inguinalis profundustan başlayıp testisin arkasında sonlanan bir çift kordondur. Funikulus spermatikus içinde bulunan yapılar; duktus deferens, plexus pampiniformis, a. testicularis, a. ductus deferentis, lenf damarları, plexus testicularis, processus vajinalis kalıntıları, n. genitofemoralis'in genital dalı, a. v. cremasterica ve m. cremaster'dir.

2.1.6. Vaz Deferens

Epididimin kuyruğundan başlayan vaz deferens, yukarıya doğru funikulus spermatikus içinde inguinal kanalı geçerek karın boşluğuna girer. Karın boşluğuna girdikten sonra a. epigastirica inferior'u dış yandan, a.v. iliaca externa'ları önden çaprazlar ve küçük pelvise girer. Mesanenin posteriorunda genişleyerek ampulla ductus deferentis adını alır. Glandula seminalisin terminal kısmı, ductus excretorius ile birleşerek ductus ejakulatorius adını alır. Ductus ejakulatorius, prostatın içinden geçerek prostatik üretraya açılır.

2.1.7. Glandula Seminalis

Mesanenin inferioposterior tarafında yerleşmiş bir çift bezdir. Ductus excretorius, kendi tarafındaki ductus deferentis ampullası ile birleşerek ductus ejakulatorius'u meydana getirir. Ductus ejakulatorius yaklaşık 2,5 cm uzunluğundadır ve prostatik üretradaki colliculus seminalis'in her iki yanına açılır. Glandula seminalis sperm depolamaz ve ejakülata en fazla sıvı katkısı olan organdır.

2.1.8. Glandula Prostatika

Prostat yaklaşık 18 gr ağırlığında, 3 cm x 4 cm x 2 cm boyutlarında olan, düz kas, bağ dokusu ve glanduler yapıdan oluşan, yoğun kollojen ve elastin içeren bağ dokusuna sahip düz kas ile çevrili bir organdır. Prostat; %70 glandüler, %30 fibromuskuler stromadan meydana gelir. Salgısı günlük 0,5 ml kadardır. Prostatik bezleri içeren fibromüsküler stroma, ejakülasyon sırasında prostat sekresyonlarını üretraya atmak için kontrakte olur.

Prostat arteryel beslenmesi, a. vesikalis inferior'dan köken alır. Prostatik venler, plexus venosus prostaticus adında bir venöz pleksus oluşturarak vena iliaca interna'ya boşalır.

2.1.9. Glandula Bulbouretralis

Membranöz üretranın her iki yanında, yaklaşık 1 cm çapında, ürogenital diyafragma içinde bir çift bezdir. Seksüel uyarı sırasında ilk olarak aktive olan bezdir ve penis ucunda görülen berrak salgı bu beze aittir. Bu bezin salgısı, seksüel uyarı ile üretraya geçer ve üretra içinde kalmış idrarı nötralize eder [15, 16].

2.2. Erkek Reprodüktif Fizyolojisi

2.2.1. Hipotalamus

Erkekte hipotalamik hipofizer gonadal (HHG) aksın (Şekil 1.) 4 temel işlevi vardır:

1- Testeron üretimi
2- Sperm üretimi
3- Seksüel olgunlaşma (Pubertede)
4- Embriyogenez esnasında belirlenen cinsiyet fenotipinin ortaya çıkması

Reprodüktif sistemde birbiriyle etkileşim içinde olan iki hormon grubu vardır; peptid yapılı hormonlar ve steroid yapılı hormonlar. Peptid yapılı hormonlar (folikül stimüle edici hormon (FSH), Luteinizan horman (LH) ve Gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH)), hedef organda hücre yüzeyindeki reseptörleriyle etkileşip hücre içi hedeflerine ikinci haberci yolakları kullanarak etki ederler. Steroid hormonlar (testesteron (T), östradiol (E_2)) ise lipofilik yapıda olduklarından hücre zarını geçebilirler ve plazmada taşıyıcı proteinlere bağlı olarak bulunurlar.

2.2.1.1. GnRH

GnRH hipotalamustan salgılandıktan sonra, portal vasküler sistem ve nöronal ağ ile sistemik dolaşıma geçmeden doğrudan hipofizdeki reseptörleri üzerinden gonadotropik hücreleri uyarır ve sonucunda FSH ve LH salgılanır. GnRH, 10 aminoasit içeren peptid yapılı bir hormondur (dekapeptid). Embriyolojik gelişim sırasında GnRH üreten nöronların migrasyonu nöral hücre adezyon molekülü (N-CAM) kılavuzluğunda olmaktadır, migrasyon sırasında yetersizlik olması sonucu Kallman sendromu gelişir. Kallman sendromu, klinikte anosmi veya hipoosmi ve hipogonadotropik hipogonadizm ile prezente olur. GnRH'nın yarılanma ömrü yaklaşık olarak 5-7 dakikadır. Hipofize sekrete edildikten sonra peptidaz sistemiyle hemen hemen tamamına yakını yıkılır. GnRH salınımı birkaç ritmisitiden etkilenmektedir;

1- Mevsimsel: İlkbaharda pik yapar. Buradaki mekanizmanın güneş ışığından çok ısı artışı ile gerçekleştiği düşünülmektedir.

2- Sirkadiyen: Sabahın erken saatlerinde T yükselmesiyle karakterizedir. Bu yükselmeden, pineal bezden salınan melatonin hormonun sorumlu olduğu düşünülmektedir.

3- Pulsatil: GnRH'nın ortalama her 90-120 dakikada pik yapmasıdır. Pulsatil salınım mekanizması tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte galanin ve nitrik oksit gibi nöradrenerjik uyarıların rol aldığı düşünülmektedir [17-19].

GnRH hipofize geçtikten sonra reseptörüyle etkileşerek hormon-reseptör kompleksi oluşturur, inozitol-3 fosfat (IP3) ve diaçilgliserol (DAG) açığa çıkar. IP3 ve DAG oluşumu, hücre içine kalsiyum akışına neden olur. Hücre içi kalsiyum artışı ekzositoz yoluyla gonadotropinlerin serbestleşmesine yol açar. GnRH'nın pulsatil bir şekilde infüzyon halinde verilmesi kendi reseptörlerini artırır, infüzyonun kesilmesiyle ise reseptör sayısı hızla azalır. Bu mekanizmaya "otonegatif etki" denir. Eğer GnRH infüzyonu devamlı yapılırsa, ilk önce reseptör sayısı atrmakta, daha sonra ise desentizasyon oluşmaktadır. Bu mekanizmayla GnRH agonistleri klinikte medikal kastrasyon amacıyla kulanılmaktadır [20].

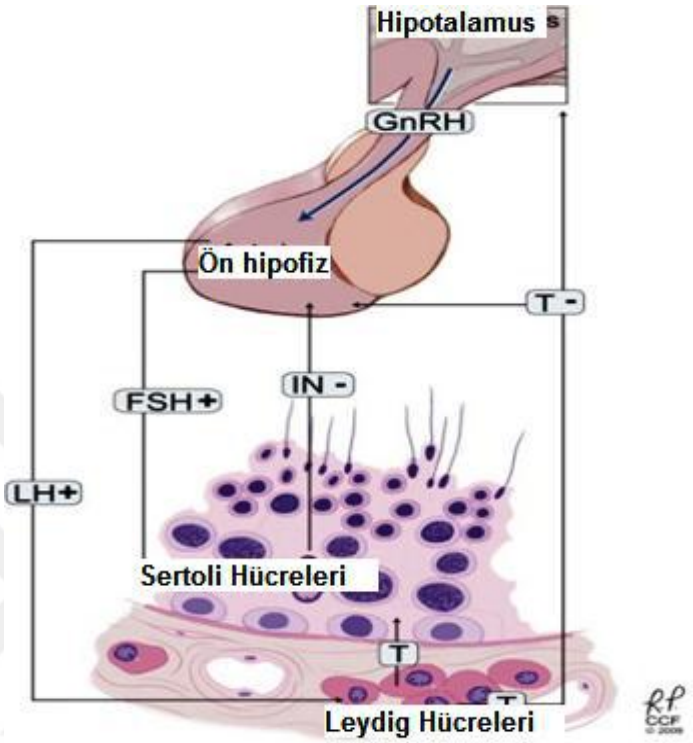
2.2.1.2. GnRH Salınımını Etkileyen Faktörler

Opioidler: GnRH salınımı üzerine negatif etki gösterirler. LH salınımının prepubertal dönemde baskılanmasında, emosyonel ve metabolik stres durumlarında, ağır fiziksel aktivitede HHG aksının suprese olması opiaterjik sistemle olmaktadır.

Seks steroidleri: GnRH salınımı üzerine negatif etki gösterirler.

Kisspeptinler: GnRH salınımı üzerine pozitif etki gösterirler. 2003 yılında hipogonadotropik hipogonadizmli bir hastada kisspeptin reseptör geninde (GPR54) mutasyon saptanması HHG aksında pozitif stimulatör etkisi olabileceği düşüncesini uyandırmıştır.

Leptin: GnRH salınımı üzerine pozitif etki gösterir. Leptin adipoz dokudan salgılanır. Leptinin GnRH sagılanmasını inhibe eden Nöropeptid Y'yi baskılayarak GnRH ve LH'yı artırdığı düşünülmektedir [21-23].



Şekil 1. HHG Aksı. Hipotalamustan Salgılanan GnRH, Hipofiz Bezinden FSH ve LH Salınımını Uyarır. LH, Leydig Hücrelerinden T Salınımını Sağlarken, FSH İse Sertoli Hücrelerini Uyararak Spermatogenezin Uyarılmasını Sağlar. Testislerden Salınan Testesteron ve İnhibin B, Gonadotropin Salınımını İnhibe Eder (Campbell-Walsh Urology, 10. Baskı, Bölüm 7, Kısım 21, syf: 627, 2011).

2.2.2. Ön Hipofiz

Hipofiz, sella turcica içerisinde yerleşim gösterir ve optik kiazma ile yakın komşuluktadır. Hipofiz, ön hipofiz (adenohipofiz) ve arka hipofiz (nörohipofiz) olmak üzere iki bölüme ayrılır. Arka hipofiz, sinirsel uyarıların etkisi ile vazopresin ve oksitosin salgılar. Ön hipofizden ise FSH, LH, Prolaktin (PRL), Adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve Tiroid stimüle edici hormon (TSH) salgılanır. Alfa ve beta alt üniteleri olan iki polipeptid zincirden oluşan FSH ve LH'nın tüm alfa subüniteleri özdeştir; farklı olan beta subüniteleridir. Hormonal aktivite olabilmesi için her iki subüniteye de ihtiyaç vardır. FSH ve LH'nın plazma

klirensinin farklı olmasının nedeninin, içeriğindeki şeker yapılarının farklı olması olduğu düşünülmektedir. LH'nın N-asetil glikozamin sülfattan zengin olması, karaciğerde metabolize edilerek dolaşımdan kısa sürede uzaklaştırılmasına neden olur. FSH ise siyalik asit bakımından zengin olmasından dolayı karaciğerin metabolizasyonundan kurtulur. Bu nedenle LH'nın yarılanma ömrü 20 dakika iken FSH'nın yarılanma ömrü 2 saat olmaktadır. FSH ve LH, GnRH'nın pulsatil etkisi ile salgılanırlar. LH oldukça pulsatil (24 saatte yaklaşık 8-16 salınım) salgılanırken FSH daha az pulsatil (her 1,5 saatte 1) bir ritm sergilemektedir. FSH ve LH'nın gonadlarda görülen etkileri, adenilat siklaz aktivasyonu sonucu hücre içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) artışı ile olur. LH, leydig hücre mitokodrilerinde steroidegenezi uyararak kolesterolden T ve pregnelon oluşumunu sağlar. FSH ise spermatogonium ve sertoli hücre zarlarına bağlanarak etki gösterir ve seminifer tübüllerin çoğalmasını sağlayan asıl uyaran olarak görev yapar [24-27].

2.2.3. Testis

Erkeklerde normal şartlar altında günlük 5 g kadar T üretilmektedir. T salınımı aralıklı, düzensiz ve pulsatil biçimde olur. T, hedef dokularda aromataz enzimi aracılığıyla E_2 ve alfa redüktaz enzimi ile dihidrotestesteron (DHT) olmak üzere iki ana metabolitine dönüşür.

FSH, seminifer tübüllerdeki sertoli hücrelerini etkileyerek androjen bağlayan protein, laktat, serüloplazmin, transferrin, plasminojen aktivatörü, büyüme faktörleri ve klusterin üretimini sağlar. İnsanlarda normal bir spermatogenez için FSH'ya gereksinim olduğu düşünülmektedir. Testislerde ayrıca inhibin ve aktivin isimli glikoprotein yapıda hormonlar da üretilir. İnhibin asıl olarak sertoli hücrelerinden salınmakla birlikte hipofiz, beyin hücreleri ve leydig hücrelerinden de salgılandığına dair yayınlar mevcuttur. Sertoli hücrelerinden FSH uyarısı ile salınan inhibin, hipofiz ve hipotalamusa etki ederek FSH salınımını baskılamaktadır. Aktivin ise sertoli hücrelerinden salınarak hipofizden FSH salınımını uyarıcı etkiye sahiptir [28-31].

2.2.4. HHG Aksının Gelişimi

Leydig hücreleri, mezonefrik mezenkim ve çölomik epitelinden gelen steroidojenik öncül hücrelerden köken alır. Bu hücrelerin farklılaşması için sertoli hücrelerinden salınan Anti müllerian hormon (AMH) ve fibroblast büyüme faktörü 9 (FGF-9) gibi uyaranlara ihtiyaç duyulur. Gebeliğin 8. haftası sonunda leydig hücreleri T üretmeye başlar. Leydig hücrelerinin testesteron üretmeye başlaması ile birlikte erkek üreme sistemi de farklılaşmaya başlar. T üretimi ve leydig hücrelerinin gelişimi, başlangıçta maternal Human Chorionic Gonadotropin (HCG) ile düzenlenirken gebeliğin ikinci trimesterinden itibaren HHG aksının aktifleşmesiyle hipofizden salınan LH'nın etkisi altına girer.

Y kromozomunun kısa kolunda Yp11.3 bölgesinde kodlanan SRY cinsiyet belirlenmesinde kritik bir rol oynar. Sex-determining region Y (SRY)'nin hedef geni SOX9, 17.kromozomun üzerinde kodlanır. SOX9 artışı ile testis farklılaşması ve sertoli hücre formasyonu başlar. SOX9, AMH ekspresyonunu atırır. AMH, paramezonefrik kanalların bozulmasını sağlar. SOX9 artışı için sertoli hücrelerinden salınan steroidojenik faktör-1 (SF1) gereklidir. SOX9, prostaglandin D2 (PGD2) ve FGF9 ekspresyonlarını artırırken WNT4 (Wingless-Type MMTV Integration Site Family, Member 4), DAX 1 (dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia critical region, on chromosome X, gene 1) ve FOXL2 (Forkhead Box L2) genlerini baskılar. Her iki gonadın gelişmesi için gerekli DAX1 antitestis geni olarak da bilinir. Doğumdan sonra 2. ve 3. aylarda tekrar leydig hücre diferansiasyonu başlar ve T yükselmesi gözlenir. Bu artışın hipotalamus, penis, prostat, karaciğer gibi androjen bağımlı organların tanınması ve yaşamın daha sonraki fazlarında etkileşimleri için oluştuğu sanılmaktadır. Yenidoğan döneminde bu artışı gerçekleştiremeyen erkek bebeklerde penis büyüklüğünün geri kaldığı bildirilmiştir. Hipotalamustan GnRH'nın pulsatil salınımı 12 yaş civarında oturmaya başlar [32-35].

2.3. Ürogenital Sistemin Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirlenmesine rağmen 7. haftadan önce her iki cinste de genital sistem benzerdir. Fenotipik özellikler 7. haftanın başında birbirinden ayrılmaya başlar. Embriyogenel gelişimin 3. haftasında 3 tabaka halinde gelişir. 3 germ yaprağından orta kısımdaki mezoderm; paraksiyel mezoderm, yan plak mezoderm ve ara mezoderm olmak üzere 3 alt bölüme özelleşir. Ara mezodermden erkek genital sistemin boşaltım kanalları ve gonadların bazı bölümleri oluşur. Altıncı haftada primordial germ hücreleri vitellus kesesi arka duvarından genital kıvrımlara göç eder. Germ hücrelerinin mezonefrozun medialinde 10. torasik segment düzeyine gelmesi ile birlikte mezonefroz ve komşu sölom epiteli hücreleri uyarılır ve bu hücreler germ hücrelerini çevreleyen somatik seks kordonlarını oluşturacak şekilde toplanırlar. Seks kordonlarındaki hücreler sertoli hücrelerine farklılaşırlar. Testis yuvarlaklaşır ve mezonefroz ile olan temas yüzeyini kısıtlar. Testis gelişimine devam ederken tunica albuginea sölom epiteli testis kordonlarından ayrılır. Seks kordonlarının iç bölgesinden rete testis ve efferent kanalcıklar gelişirken, seks kordonlarının yüzeye yakın kısmından seminifer tübüller gelişir. Mezonefrik kanalların kaudal bölümünden vaz deferens, seminal vezikül ve epididim gelişir. Mezonefrik kanalların bitişiğindeki endoderm kökenli olan pelvik üretradan ise bulboüretral bezler ve prostat gelişir. 9.-10. haftalarda mezonefrozda yer alan mezenkim hücreleri sertoli öncüsü hücrelerin uyarısı ile testise göç eder ve leydig hücrelerine farklılaşırlar. Bu hücreler T salgılamaya başlarlar. Leydig hücrelerinde bulunan 5 alfa redüktaz enzimi ile T, DHT'ye dönüşürek genital kabartılardan skrotum, genital tuberkülden ise penis oluşumunu sağlar. DHT ayrıca testisin retroperitondan skrotuma inmesi için de gereklidir.

Testisin skrotuma inmesi 3 aşamada olur. İlk önce kranial asıcı bağda bulunan reseptörlerin androjenlerin etkileşimi sonucu kranial asıcı bağ geriler ve testis aşağıya doğru kayar. Daha sonra leydig hücrelerinden salınan insulin-like3 (INSL3) hormonu ile testisler inguinal kanal düzeyine gelir. 3. aşamada gubernakulum su kaybederek kısalması ile testisler skrotuma iner. Testisin skrotuma inmesinde INSL3, karın içi basınç, androjenler, androjen reseptörleri, genitofemoral sinir ve kalsitonin gen related peptidin etkisi olduğu söylenmektedir [36].

2.4. Testisin Mikroskopik Yapısı

Testis foksiyonel ve yapısal olarak 2 ayrı kompartmandan oluşur. Seminifer tübül kompartmanda germ hücreleri ve sertoli hücreleri bulunur, interstisyel kompartmanda ise leydig hücreleri, kan damarları, peritubuler myoid hücreler, mast hücreleri, nörovasküler hücreler, fibroblastlar, lenfatikler ve makrofajlar bulunur.

2.4.1. Leydig Hücreleri

Testis volümünün yaklaşık olarak %5-12'sini oluşturur. Gestasyonun 15. haftasında testis volümünün yarısından fazlasını oluşturan leydig hücreleri, doğuma kadar yaklaşık %60 oranında volüm kaybına uğrar. Genç erişkin bir erkekte her testiste yaklaşık 700 milyon leydig hücresi bulunur ve bu hücreler prolifere olamazlar; ancak rejenerasyon kapasitesine sahiplerdir. Leydig hücreleri, testiküler steroid üretiminden sorumludurlar. Testis tarafından üretilen ana steroid olan T, kolesterolden bir dizi aşama sonucu sentezlenir. Steroidojenik akut regülatuar protein (StAR), leydig hücrelerinde üretilir ve kolesterolün mitokondri dış memranından iç memrana taşınmasını kolaylaştırır. CYP11A1 ile kolesterolün pregnenolona dönüşümü katalizlenir. CyP17 ile pregnolon 17 OH-pregnenolona dönüşür. Bundan sonra bir dizi enzimatik reaksiyon ile T sentezlenmiş olur. T sentezinde sorumlu enzimlerde mutasyon olması sonucu normal kromozomlu erkeklerde şüpheli genitelya gelişebilir. Yaşam boyu T gebeliğin 12.-18. haftalarında, doğum sonrası iki aylıkken ve puberte ile birlikte 2. ve 3. dekatta pik yapar. Serum testesteron düzeyi 5. dekatta plato yapar ve yaşlanma ile birlikte T seviyeleri giderek azalır [37-41].

2.4.2. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri seminifer tübüllerin duvarındaki bazal membran üzerinde bulunur. Sertoli hücreleri arasında tight junctionlar ile bağlantılar bulunmaktadır. Kapiller endotel hücrelerin de katkısıyla oluşan kan testis bariyeri seminifer tübül boşluğunu iki kompartmana ayırır. Bazal kompartmanda spermatogonimlar ve genç spermatositler bulunur, luminal kompartmanda ise olgun spermatositler, spermatozoa ve spermatidler bulunur. Bu bariyer pubertede oluşmaktadır ve spermatogenezin en

hassas safhası olan mayoz bölünme sırasında germ hücreleri için uygun çevresel ortam sağlamaktadır. Ayrıca bu bariyer germ hücrelerinin immün sistem tarafından tanınmamalarını sağlar. Sertoli hücreleri gestasyonun 11.-13. günlerinde mülleryan inhibe edici faktör üretmeye başlar ve uterus, serviks ve vajinal yapıların gelişimini engeller. Sertoli hücreleri, doğum sonrasından puberteye kadar geçen sürede salgıladıkları maddeler ile germ hücrelerinin mayoz bölünmesini engeller. Spermatogenez sırasında oluşan artık maddeleri ve spermatogenezde apopitoza giden yapıları fagosite eder. Germ hücrelerinin esas enerji kaynağı olan laktat sertoli hücreleri tarafından üretilir. Sertoli hücreleri tarafından salınan androjen bağlayıcı protein testesteronu bağlar ve seminifer tubuller içerisinde yüksek androjen seviyelerinin oluşmasını sağlar. Sertoli hücreleri tarafından üretilen inhibin B, FSH salınımı üzerine negatif feed-back etki gösterir. İnhibin B, sertoli hücre fonksiyonunu göstermede iyi bir belirteçtir. Sertoli hücreleri tarafından üretilen transferrin, germ hücrelerinin demir ihtiyacının karşılanmasını sağlar [38, 42-46].

2.4.3. Germ Hücreleri

Erkeklerde seminifer tubullerde günde yaklaşık 123 germ hücresi üretilir. Testiste germ hücre gelişimi; primordiyal germ hücreleri (PGH), spermatogonyal kök hücre (SKH) ve spermatozoa sırasıyla olur. Puberteye kadar bölünmeden kalan spermatogoniumlar, puberte ile Tip A koyu spermatogoniumları oluşturur. Tip A spermatogoniumların bir kısmı Tip A açık spermatogoniumlara farklanır. Tip A açık spermatogoniumların bir kısmıda 16 gün aralıklı mitoz bölünmelerle Tip B spermatogoniumları oluşturur. Tip B spermatogoniumlar, mitoz bölünmeler sonucu, en büyük boyutlu germ hücresi olan spermatositlere dönüşür. Daha sonra primer spermatositler 1. mayoz bölünmeye girer ve haploid kromozomlu sekonder spermatositi oluşturur. 2. mayoz bölünme ile DNA sayısı yarıya iner, kromozom sayısı değişmez ve spermatid oluşur. Spermatogenez sonucu oluşan spermatid bir dizi değişim sonucu spermatozoaya dönüşür. Bu dönüşüm sürecine "spermiyogenez" denir. Bu dönüşüm sürecinde spermatid sitoplazmasında ve çekirdeğinde önemli değişiklikler gerçekleşir. Bu değişikler arasında golgi kompleksinden akrozom oluşumu, organellerin yer değiştirmesi, hücre çekirdeğinin hacminin %10'una kadar sıkışması, sentriolden flagellum oluşumu, mitokondrinin orta kısıma yerleşimi

sayılabilir. Kromozomların yoğunlaşması ile spermatid hücre çekirdeği yuvarlak olan yapısından asimetrik sferik bir şekle dönüşür.

2.4.3.1. Spermatozoa

İnsan spermatozoası yaklaşık 60 μm uzunluğundadır. Baş, boyun ve kuyruk olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Oval olan baş kısmı 4,5 μm uzunluğunda, 3 μm kadar genişliğindedir. Baş kısmı akrozomla sarılmış yoğunlaşmış kromatine sahip çekirdekten oluşur. Boyun kısmı, baş ile kuyruk kısmını birbirine bağlar. Boyun kısmı, bir tanesi genellikle parçalı olan iki adet sentriol ve bunları çevreleyen 9 adet bağlayıcı parçanın oluşturduğu silindirik kolonlardan oluşmaktadır. 9 adet kolonun arka yüzleri dış fiberler ile devamlılık gösterir. Kuyruk kısmı; orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere alt kısımlara ayrılır. Orta parça, boyun ve esas parça arasında yerleşmektedir. Orta parça merkezde yer alan aksonemin etrafında bulunan dış yoğun fiberleri çevreleyen mitokondriyel kılıfın bulunmasıyla karakterizedir. Orta parça, anulusta sonlanır. 9 adet dış yoğun fiberin 2 tanesi anulusta sonlanırken geri kalan 7 tanesi esas parçaya uzanarak devamlılık gösterir. Esas parça anulustan başlayıp son kısma dek devam eder ve kuyruğun en uzun parçasıdır. Aksonemi, orta parçanın aksonemi ile devamlılık gösterir. Aksonemini çevreleyen dış yoğun fiberler 7 adet olup çevrelerinde fibröz kılıf bulunmaktadır. Son kısım plazmalemma ile çevrili merkez aksonem içermektedir. Aksonemin son 0,5-1,0 μm kısmı disorganize bir yapı halindedir.

Sperm hücresinin temel enerji molekülü olan adenozin 3-fosfat (ATP), 75 adet mitokondri tarafından, mitokondriyel kılıf içerisinde oksidatif mekanizmalarla sentezlenir. Spermin zona pellucidaya bağlanması ve ardından akrozom reaksiyonun başlatılması ise spermin hücre hücre membranında bulunan karbonhidrat bağlayıcı proteinlerin zona pellucidada bulunan özelleşmiş Zona pellucida glikoprotein 3 (ZP3 proteini) ile etkileşmesiyle gerçekleşir. Fertilizasyon sırasında füzyon proteini olarak görev yapan PH30 (fertilin) aracılığıyla sperm ve ovum hücre zarları arasında birleşme sağlanır [47-50].

2.5. Erkek İnfertilitesi

Normal bir kadın partner varlığında vajinal yoldan normal sıklıkta ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen 12 ay içerisinde gebeliğe ulaşılamaması durumuna "infertilite" denir. Dünya çapındaki prevalansının %10-15 olduğu tahmin edilmektedir. Normal çiftlerde ilk ayda %20-25, ilk 6 ayda %75, 1 yılın sonunda %90 oranında çocuk sahibi olmaktadırlar. İnfertilitenin klasik tanımında 12 ay beklenmesi gerektiği söylense de; bilateral inmemiş testis gibi risk faktörlerinin bilindiği, ileri yaş (35 yaş üstü) gibi kadına ait risk faktörlerinden şüphenilmesi, erkeğin kendi fertilite potansiyelini öğrenmek istemesi durumunda infertilite değerlendirilmesi 1 yıldan önce yapılabilir. Diğer hastalıklarda olduğu gibi infertil erkeğin değerlendirilmesinde öykü, fizik muayene ve başlangıç laboratuar bulguları ile başlanılır [51-53].

2.5.1. Öykü

İnfertilite tanı ve tedavisinde ayrıntılı bir tıbbi öykü almak büyük önem taşır. Başlangıçta üreme öyküsünü, cinsel ilişki zamanlamasını ve sıklığını, önceki gebeliklerin öyküsünü, infertilite süresini, sık üst solunum yolu hastalığı geçirilip geçirilmediği ve diyabet gibi sistemik hastalıkların olup olmadığı, cinsel yolla bulaşan hastalık geçirilip geçirilmediği, varsa geçirilmiş cerrahiler, gonadal toksine maruz kalma öyküsü olup olmadığını içermelidir (Tablo 1).

Tablo 1. Subfertil Erkeğin Değerlendirilmesinde Öykü

Kısırlık Öyküsü:	Süresi	
	Önceki gebeliklerin sonuçları (şimdiki ve/veya önceki eşinden)	
	Önceki fertilite değerlendirmesi ve tedavileri	
	Kadın partnerin durumu ve aldığı tedaviler	
Cinsel hikaye:	Erektil fonksiyon, Ejakülasyon	
	Lubrikan kullanımı	
	İlişki sıklığı/zamanlaması	
Geçmişe ait hikaye:	Çocukluk dönemi ->	İnmemiş testis
		Pubertenin başlangıcı
	Testis patolojileri ->	Torsiyon
		Travma
	Orta hat defektleri (yarık damak-dudak)	
Tıbbi Öykü:	Diabetes mellitus	
	Nörolojik hastalıklar ->	Spinal kord travması
		Multipl skleroz
		Kafa travması
Enfeksiyon:	Üriner enfeksiyon	
	Cinsel yolla bulaşan hastalık	
	Epididimit/prostatit	
	Tüberküloz	
	Kabakulak orşiti	
	Yakın tarihli viral-febril hastalık	
Renal hastalıklar		
Kanser:	Cerrahi	
	Kemoterapi/radyoterapi	
Cerrahi:	Orşiopeksi	
	Retroperitoneal/pelvik cerrahi	
	Vazektomi	
	Mesane boynu/prostat cerrahisi	
İlaçlar:	Antiandrojenler	
	Antibiyotikler	
	Antidepresanlar ve Antipsikotikler	
	Alfa blokerler	
Gonadotoksinler:	Çevresel ajanlara maruziyet (pestisidler, ağır metaller)	
	Radyasyon	
	Alışkanlıklar (Sigara, uyarıcı ilaçlar, anabolik steroidler)	
	Isı	
Aile hikayesi:	Birinci derece yakınlarında kısırlık	
	Kistik fibrozis	
	Androjen reseptör yetmezliği	
Sistemlerin Gözden Geçirilmesi:	Anosmi (Kallman sendromu)	
	Görme alanı defektleri (Hipofiz tümörü)	
	Galaktore (Prolaktinoma)	

Korunmasız cinsel ilişkiye rağmen 12 ay içinde önceki veya şimdiki eşinde konsepsiyon olmaması "primer infertilite", başka bir kadın veya şimdiki eşinde daha önce konsepsiyon sağlanmış, fakat son bir yılda gebelik sağlanamamışsa "sekonder infertilite" olarak ifade edilir. Sekonder infertilitenin en sık nedeni varikoseldir. Sekonder infertilitenin prognozu, primer infertiliteye göre daha iyidir [54].

Cinsel ilişki sıklığı ve zamanlaması infertilite hikayesinde sorgulanması önem taşır. Çiftlere kadının ovulasyon zamanı ilişkiye girip girmediği sorgulanmalıdır. Ovulasyondan sonra oositin yaşam süresi yaklaşık 12-24 saat olduğundan ovulasyondan 5 gün önce, 2 günde bir yapılacak cinsel ilişki optimum süre ve sıklık için önemlidir.

Yaşlanma ile over rezervi azalmaktadır. Dolayısıyla 35 yaşını geçmiş kadın partnere sahip infertil çiftlerin tanı ve tedavisine bir an önce başlanmalıdır.

Sık ejekülasyon epididimal sperm olgunlaşmasını bozar, daha az sıklıkla yapılan ejekulasyon ovulasyonu kaçırmaya neden olabilir. 2-5 gün arasında olan spermler fertilizasyon için en uygun spermlerdir. Bundan dolayı mastürbasyon ve/veya koitus 2-5 gün arasında olması idealdir.

Puberta yaşı, gece ejekulasyonlarının varlığı ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi sorgulanmalıdır. Erken puberta kojenital adrenal hiperplazi, dışardan androjen alımı veya aşırı androjen üretimi gibi durumlarda ortaya çıkar.

Tek taraflı inmemiş testisi olan hastalarda infertilite riski 2 kat, iki taraflı inmemiş testisi olanlarda ise infertilite riski 6 kat artmıştır.

Postpubertal geçirilen kabakulak orşitinde, testiste oluşan ödeme bağlı gelişen anoksi sonucu testisler atrofiye gidebilir.

Testiküler travma ve testis torsiyonu, testiste atrofi geliştirmesinin yanında antisperm antikorları oluşturarak da sperm motilitesi ve işlevi üzerinde olumsuz etkiler oluşturabilir.

Geçirilmiş inguinal, skrotal veya retroperitoneal cerrahiler, vaz deferenste obstruksiyon yapabilir, spermlerin emisyon veya ejekülasyonunu bozabilirler. Skrotal cerrahiler sırasında vaz deferens veye epididim yaralanabilir. Yapılan retroperitoneal lenfadenektomi sırasında sempatik sinirler hasarlanabilir bu da anejekülasyon ya da retrograd ejekülasyona neden olabilir. İnguinal herni onarımı ameliyatı sırasında vaz deferens veya vasküler yapılarda hasar oluşabilir. Ayrıca herni onarımı sırasında kullanılan meşlere bağlı olarak gelişen yoğun fibrotik reaksiyon sonucu vazal obstrüksiyon gelişebilir.Mesane boynu Y-V plastileri ve transüretral prostat rezeksiyonu da retrograd ejekülasyona neden olabilir.

Diyabetes mellitus, endotel disfonksiyonuna ve nörolojik hasara bağlı olarak ereksiyon ve ejekülasyon fonksiyonlarını bozabilir. Hipertiroidizm ve hipotiroidizm, steroid hormon metabolizmasını bozarak ve sperm kalitesini olumsuz yönde etkileyerek subfertiliteye neden olabilir. Ayrıca tiroid kanseri tedavisinde kullanılan radyoaktif iyot, semen parametrelerini bozarak infertiliteye neden olabilir. Yüksek ateş ve viremi ile giden sistemik hastalıklar da testiküler işlevler bozulmakta, semen parametreleri olumsuz yönde etkilenmektedir.

Testiküler germ hücreli tümörler ve Hodkin hastalığı doğrudan gonadotoksik etkiler oluşturabilir. Ayrıca kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötikler ve radyoterapi, gonadal fonksiyonları geçici veya kalıcı olarak bozabilmektedir. Testis kanseri ve lenfoma tanısı almış hastaların % 60' ında oligospermi saptanmıştır.

Çevresel toksinler, uyarıcı madde alımı ve medikasyonlar testisi doğrudan veya dolaylı olarak etkileyip kısırlığa yol açabildiğinden bu konularla ilgili detaylı bir hikaye alınmalıdır. Skrotal ısı artışına neden olan sıkı iç çamaşırı, uzun süre dizüstü bilgisayar kullanımı, fırında çalışma ve sauna spermatogenezi bozduğu gösterilmiştir. 200 R'lık radyasyon 2 yıl süreyle spermatogenezi bozarken, 600 R'ı geçen radyasyona bir kez maruz kalmak spermatogenezi geri dönüşümsüz olarak

bozar. Eroin ve marihuana gibi uyuşturucular, sigara, alkol, fazla miktarda kafein, arsenik ve kurşuna kronik olarak maruz kalmak spermatogenezi bozmaktadır. Sigara kullanımında sperm morfolojisi, konsantrasyonu, canlılığı ve ileri motilitesi bozulmasının yanında sperm penetrasyon potansiyeli de negatif yönde etkilenir. Penetrasyonun bozulması hem doğal yolla gebe kalmayı zorlaştırır hem de yardımcı üreme tekniklerinin başarı oranını düşürür.

Benign prostat hiperplazisi (BPH) tedavisinde kullanılan 5 alfa redüktaz inhibitörleri ereksiyon ve ejekülasyon fonksiyonlarının bozulmasının yanında semen volümünde azalmaya neden olabilir. BPH tedavisinde kullanılan tamsulosin ve silodosin gibi alfa blokerler ejekülasyonu bozarak infertiliteye neden olabilir. Monoamin oksidaz inhibitörleri, lityum, fenotiyazinler ve serotonin geri alım inhibitörleri gibi psikoterapötikler HHG aksını etkileyebilir, ejekülasyon ve ereksiyon fonksiyonlarını bozabilir ve libidoyu azaltarak subfertilite nedeni olabilir. Uzun süreli DNA giraz inhibitörü antibiyotik ve nitrofurantoin kullanımı semen parametrelerini bozabilir, yine uzun süreli kolşisin kullananlarda oligospermi gelişebilir. Dışarıdan alınan androjenik steroidler, LH ve FSH'yı baskılar bu da azospermi ile sonuçlanan hipogonadotropik hipogonadizmle sonuçlanabilir. İlacın bırakılması geç de olsa spermatogenezi döndürebildiği gibi nadiren kalıcı da olabilir.

Aile öyküsünde kistik fibrozis (KF) varlığı epididimal, vazal ve seminal kese anomalileri ile birlikte vaz deferenslerin konjenital yokluğunu düşündürebilir. İnterseks aile hikayesi bulunanlarda androjen reseptör anomalileri araştırılmalıdır [51, 55-67].

2.5.2. Fizik Muayene

2.5.2.1. Genel Vücut Bakısı

Fizik muayeneye, genital bölgeye yoğunlaşılmakla birlikte, olgunun genel görünümü ile başlanmalıdır. Azalmış vücut kıllanması, jinekomasti, yüzde ince kırışıklıklar, temporal kelliğin olmaması gibi androjen eksikliğine nedeniyle olabilecek bulgular kaydedilmelidir. Hipertiroidi ve hipotiroidi, subfertilite nedeni

olabileceğinden tiroid palpasyonu yapılmalıdır. Abdominal palpasyonda hepatomegali tespit edilmesi, seks steroid metabolizmasının bozulmasına yol açan hepatik disfonksiyonuna gösterebilir.

2.5.2.2. Genital Bakı

Peniste bulunan penil kurvatür, penil kordi, epispadias, proximal hipospadias kadın genital sistemine ejekülatın iletilmesini engelleyebilir. Testis muayenesi, kremaster kasların relaksasyonunu sağlamak amacıyla sıcak bir odada yapılmalıdır. Bütün testisin yüzeyi ve kıvamı incelenmeli, testiküler kitle varlığı ekarte edilmelidir. Testis volümü Takihara veya Prader orşidometresi ile ölçülmelidir. Epididim özenle muayene edilerek baş, gövde ve kuyruk kısmı palpe edilmelidir. Distal obstrüksiyonlarda epididim genişlemiş ve dolgun olarak palpe edilebilir. Epididimde granülomatöz lezyonların palpe edilmesi intravezikal Bacillus Calmette-Guérin(BCG) tedavisi, tüberküloz veya sarkoidoz ile ilişkili olabilir. Spermatik kord muayenesinde vaz deferensler palpe edilmeli, tek taraflı veya çift palpe edilememesi durumunda kistik fibrozis akla gelmelidir. Spermatik kordun önce ayakta valsalva manevrası öncesi ve sonrası, daha sonra da supin pozisyonunda muayene edilmesi varikoselin olup olmadığının anlaşılmasını sağlar. Fizik inceleme bulgularına göre varikosel 3 derecede sınıflandırılır. Derece 1'de valsalva manevrası ile, derece 2'de valsalva manevrası olmadan dilate venler palpe edilir, derece 3'te ise valsalva manevrası olmadan dilate venler gözle görülür. Varikosel; sekonder infertilitede %81, primer infertilitede %19-41, normal erkeklerde ise %15 oranında görülür. Parmakla rektal muayene yapılarak prostat bezinde hassasiyet (prostatit) veya normalde palpe edilemeyen seminal veziküller palpe edilebilir. Seminal veziküllerin palpe edilmesi, ejakülator kanallarda obstruksiyonu akla getirir [54, 68, 69].

2.5.3. Laboratuar Testleri

2.5.3.1. Semen Analizi

Semen analizi bir erkeğin üreme sağlığı ile ilgili klinik bilgiler sunan önemli belirteçlerden biridir (Tablo 2). İnfertil erkeğin değerlendirilmesinde hikaye ve fizik muayeneden sonra ilk istenecek testtir. Semen analizi için 2-7 gün cinsel perhiz gereklidir, bununla birlikte epididim işlevleri salim olduğu sürece spermlerin kromatini ve vitalitesi cinsel perhiz süresinin uzamasından olumsuz etkilenmez. Tek bir semen numunesiyle kişinin semen kalitesini değerlendirmek mümkün olamayacağı için, iki veya üç örneğin incelenmesi yararlı olacaktır. Ejakülatın ilk kısmını spermden zengin prostat sekresyonu oluşturduğundan bu kısmın kaybedilmesi semen analiz sonuçlarını olumsuz yönde etkileyebilir. Ereksiyon sorunu olan hastalara oral yoldan fosfodiesteraz tip 5 inhibitörü verilebilir veya gerekli görülürse penise kavernözal ya da subkütan yoldan prostaglandin enjeksiyonu yapılabilir. Semen analizinin makroskopik ve mikroskopik olarak değerlendirilebilmesi için izlenen basamaklar şunlardır:

İlk 5 dakikada: Semen standartlara uygun temiz kapaklı bir kaba alınır ve likefaksiyon için ısıtılmış bir sehpa üstünde vaya inkübatörde (37°C) bekletilir.

30-60 dakika arası: Likefaksiyon süresinin, semen görünümünün, semen vizkositesinin, sperm haraketinin, sperm sayısının değerlendirilmesi ve gerekirse immünolojik değerlendirme için mikroskopik inceleme yapılabilir.

3-4 saat arası: Gerekiyorsa örnek biyokimya ve/veya mikrobiyoloji laboratuarına gönderilebilir.

2.5.3.1.1. Makroskopik İnceleme

Likefaksiyon Süresi: Ortalama ilk 15 dakikada gerçekleşir ancak 60 dakikaya kadar uzayabilir. Likefaksiyon prostat tarafından salgılanan fibronolizin tarafından kolaylaştırılır. Biçimsiz veya uzamış likefaksiyonda, azalmış prostat sekresyonuna veya ejekülatör kanal obstruksiyonuna işaret edebilir.

Semen Hacmi: Hacim doğrudan veya içine toplanıldığı kapla birlikte tartılmasıyla ölçülür. Semen hacmi için en düşük referans değeri 1,5 ml' dir.

Görünüm: Sıvılaşmadan sonra semen homojen gri-opak bir görünümde olur. Üretral kanaması olanlarda semen pembe olabilir, hasta ikterikse sarı renkte görülebilir.

Semen Ph'sı: Semen Ph'sı başlıca prostat ve seminal veziküllerin sekresyonları tarafından belirlenir. Alt eşik olarak uzlaşı değeri 7,2 olarak kabul edilmektedir. Sperm sayısı az ve hacimi düşük bir semenin, semen Ph'sı 7,0'dan düşükse ejekülatör kanal obstrüksiyonu veya seminal keselerin hipoplazisi ile birlikte bilateral vaz deferens yokluğu düşünülebilir.

2.5.3.1.2. Mikroskopik İnceleme

Taze semenin makroskopik incelenmesini takiben ıslak preparat hazırlandıktan sonra bir faz kontrast mikroskobu ile geliştirilmiş Neubauer hemositemetresi veya Makler sayma kamarası kulanılması önerilir.

Sperm aglütinasyonu: Hareketli spermlerin birbirlerine kuyruk-kuyruk, baş-baş veya karışık şekilde bir arada bulunmasıdır. Aglutinasyonun görülmesi immünolojik bir nedene (antisperm antikorlara) bağlı olabileceğinden ileri testlere gerek duyulur.

Sperm Agregasyonu: Hareketsiz spermlerin birbirlerine; hareketli spermlerin sperm dışı hücrelere (Genitoüriner sistem kaynaklı epitel hücreleri, immatür germ

hücreleri ve lökositler), mukus iplikçiklerine veya debris materyali ile yapışması ile gözlenebilir.

Sperm Konsantrasyonu ve Total Sperm Sayısı: Sperm konsantrasyonu milimetredeki sperm sayısını, total sperm sayısı ise ejakülattaki toplam sperm sayısını ifade eder. Normal sperm konsantrasyonu 15 milyon sperm/ml ve üzeri olarak tanımlanır. Semen örneğinde 15 milyon sperm/ml den az sperm konsantrasyonu olması "oligospermi" olarak tanımlanır. Oligospermi değerlendirmesi yapılmadan önce cinsel perhizin süresinden ve semenin tam olarak toplanıldığından emin olunmalıdır. Oligospermi saptandığında sperm morfolji ve sperm motilite değerleri önem kazanır. Ağır oligospermi ve azospermi varlığında hormonal değerlendirme, karyotip analizi ve Y kromozom mikrodelesyonları araştırılır. Ejakülattaki toplam sperm sayısı sperm konsantrasyonu ile tüm ejakülat hacminin çarpılması ile elde edilir. Toplam sperm sayısı alt sınırı 39×10^{6}'dır.

Sperm Motilitesi: Sperm motilitesinin, numunenin sıvılaşmasından sonra tercihen 30 dakika, en geç ise 1 saat içinde değerlendirilmesi gerekir. Spermler ileri hareketli (progresif motilite), yerinde hareketli (nonprogresif motilite) ve hareketsiz (immotil) olarak sınıflandırılır. İleri hareket, geniş bir daire içinde veya doğrusal olarak ilerleyici şekilde hareket etmesidir. Yerinde hareket, ileriye doğru hareketin olmadığı tüm diğer hareketlilik halleridir. Hareketsizlik, hareketin olmadığı spermleri ifade eder.

Sperm Canlılığı: Sperm canlılığı, sperm hücre memranı bütünlüğüyle belirlenir ve boyama veya hipoozmatik şişme testi ile değerlendirilir. Hareketli spermlerin oranının %40'tan az olduğu durumlarda sperm canlılığı önem kazanır.

Sperm Morfolojisi: İnsan spermi morfolojik olarak değişkenlik göstermesi, morfolojik değerlendirmeyi güçleştirir. Postkoital endoservikal mukustan ve zona pellucida yüzeyinden alınan spermlerin incelenmesiyle fertilizasyon potansiyeline sahip normal bir spermin morfolojik kriterleri tanımlanmıştır. Spermlerin morfolojik olarak normal ya da olmaması aşağıdaki kriterlere göre belirlenir:

- Baş: Düzenli sınırlı, düzgün, oval şekilli baş alanının %40-70'ini akrozom kaplamalıdır. Baş kısmı post-akrozomal bölgede vakuol içermemeli, akrozom bölgesinde 2'den fazla vakuol içermemeli, vakuol sperm başının %20 sinden fazlasını kaplamamalıdır.

- Orta Parça: İnce, sınırlı, düzgün, uzunluğu yaklaşık sperm başı kadar olmalıdır. Orta parçanın ana ekseni, sperm başının ana ekseni ile aynı hizada olmalıdır.

- Sitoplazmik Damlacık: Aşırı miktarda rezidüel sitoplazma anormaldir (sperm başının 1/3'ten daha fazla alanı kaplarsa).

- Ana Parça: Uzunluğu boyunca aynı genişlikte, orta parçada ince ve yaklaşık 45 µm uzunlukta olmalıdır. Kuyruk kırılmamalı ve kıvrılmamalıdır. Kıvrımlı ve sarmal kuyruklar epididim işlev bozukluğuna işaret edebilir [54, 70-74].

Tablo 2. WHO 2010 Semen Analizi Referans Aralıkları

Parametre	Alt Referans Limitler	Referans Aralığı
Volüm (ml)	1,5	(1,4–1,7)
Toplam sperm sayısı (10^6/ejekülat)	39	(33–46)
Sperm konsantrasyonu (10^6/ml)	15	(12–16)
Toplam motilite (ileri+yerinde hareketli)	% 40	(38–42)
İleri doğrusal motilite	% 32	(31–34)
Canlılık	% 58	(55–63)
Sperm morfolojisi	% 4	(3–4)

2.5.4. Endokrin Değerlendirme

Erkek infertilitesinin sık bir nedeni olmasa da (%3) fertilite için normal çalışan bir hormonal sistemin varlığı gereklidir. Endokrin değerlendirme; sperm konsantrasyonu 10 milyon/ml'nin altında olan, cinsel işlev bozukluğu olan, bilinen

veya şüphelenilen endokrin bozukluğu olan veya ciddi testiküler yetmezliğe ait klinik bulguları olan hastalara yapılmalıdır.

Başlangıç için FSH ve T düzeylerinin ölçülmesi önerilmektedir. Eğer bu testlerde anormallik mevcutsa total T tekrarı, serbest T, LH ve prolaktin (PRL) düzeyi ölçümü yapılmalıdır. Serum FSH yükseklikleri primer testiküler yetmezlik durumunda artar ve spermatogenez bozukluklarına işaret edebilir. Nonobstruktif azospermili (NOA) hastalarda serum FSH seviyeleri genellikle yüksektir; ancak FSH seviyesinin normal olması spermatogenezin normal olduğu anlamına gelmez.

PRL ölçümünün infertilitenin standart değerlendirilmesinde rutin olarak yapılması önerilmemektedir. Libido azalması durumunda, santral sinir sistemi tümörü şüphelenildiğinde ve PRL seviyesini artıran ilaç kullanımı gibi durumlarda PRL düzeyi ölçülmelidir.

Obezite ve karaciğer hastalığı, jinekomasti, eksojen E_2 kullanımı hikayesi ve testiste kitlesi olan infertil hastalarda E_2 seviyesine bakılmalıdır. E_2 yüksekliği, hipofizden gonodotropin salınımını baskılar, buna ek olarak spermatogenezi direkt olarak olumsuz yönde etkileyebilir.

Hipotiroidizmde sperm motilitesi, morfolojisi ve sayısı ile birlikte erektil fonksiyonları da olumsuz yönde etkileyebileceğinden, hipotiroidizmden şüphelenilen durumlarda tiroid fonksiyon testlerine bakılmalıdır.

2.5.4.1. Erkek İnfertilitesinde Endokrin Nedenlerinin Ayırıcı Tanısı

1) Hipogonadotropik hipogonadizm (HH): LH ve FSH salınımında yetersizliğe bağlı olarak T salınımı azalır ve spermatogenez duraklar. Konjenital HH değişik formlarda karşımıza çıkmakla birlikte en sık formu Kallman sendromudur. Kazanılmış HH sebepleri arasında metabolik hastalıklar (orak hücreli anemi, talasemi), infiltratif hastalıklar (histiositozis X, amiloidoz, sarkoidoz), geçirilmiş cerrahi, hipofizer infarkt, hipofizer tümörler ve enfeksiyonlara bağlı hipofiz bozuklukları ve diğer bazı tıbbi durumlar sayılabilir.

Hipofiz tümörleri genelde PRL salgılarlar. Erkeklerde PRL salgılayan tümörlü hastalarda kliniğe başvuru nedeni genellikle cinsel işlev bozukluğudur. Tedavisinde, tümörün büyüklüğüne göre dopamin agonistleri ya da cerrahi kullanılabilir. Orak hücreli anemi ve talasemide yapılan kronik kan transfüzyonu, dolaşımdaki demir oranının artırır ve daha sonra hipofizde demir birikmesine neden olarak HH'ye yol açabilir. İleri derecede yanıklar, AİDS, myokard infarktüsü gibi hastalıklarda HHG aksı baskılanabilmektedir.

2) Testiküler yetmezlik: Primer testiküler yetmezliğin bilinen en sık nedeni Klinefelter sendromudur (KS). KS hastaları, kliniğe genellikle infertilite ile başvururlar. Anorşi, testiküler torsiyon, otoimmün testiküler yetmezlik, puberte sonrası viral ya da bakteriyel orşit, radyasyon, kemoterapötik ajanlar, 5 alfa redüktaz eksikliği, androjen reseptör defekti diğer testiküler yetmezlik nedenleridir [54, 67, 75-80].

2.5.5. Genetik Testler

Son yıllarda moleküler genetik alanındaki gelişmeler, erkek infertilitesinin genetik kökeni hakkında detaylı bilgiler ortaya koymuştur. Androloji kliniklerinde yapılan genetik testler arasında kromozom analizleri, Y kromozom mikrodelesyonları ve seçilmiş bazı genlerin sekanslanması sayılabilir. Bilateral kabakulak orşiti veya spermatotoksik kemoterapi gibi bilinen sebep olmayan ciddi oligospermili (sperm sayısı<5milyon/ml) ve azospermili hastalara Y kromozom mikrodelesyon analizi ve karyotip analizi yapılması önerilmektedir. Bu tetkikler, oligospermi veya azosperminin nedenini ortaya koymakla birlikte tedavi sonrası hastaların kendi sağlık durumları ve mevcut genetik problemin çocukları üzerinde etkileri hakkında hastalara genetik danışmanlık verilmesi açısından önem taşımaktadır [54, 81].

2.5.5.1. Kleinefelter Sendromu (KS)

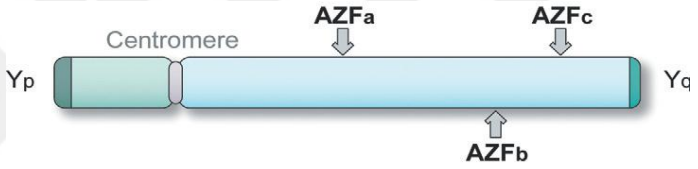
NOA'nın (%10) en sık genetik nedeni olmakla bilikte erkek hipogonadizminin (%0.2) en sık görülen formudur. Çoğu KS'lu hastada mayotik

bölünme sırasında nondisjunction nedeni ile pür 47 XXY karyotip mevcut iken, %10'luk kısımda mitoz bölünme sırasında ayrılmamaya bağlı mozaik karyatip görülür. Artan baba yaşı, KS için risk faktörüdür. Genellikle adölesan döneme kadar tanı konmadan gelebilirler. Bazı KS'lu hastalar ise fertilite değerlendirmesi sırasında saptanır. Küçük testis boyutları, azalmış androjen seviyeleri ve infertilite tipik özelliklerindendir. Hastalar genellikle normalden daha uzundur. 25'li yaşlardan sonra libido azalması ve ereksiyon problemleri çoğu hastada mevcuttur. Meme kanseri, non-Hodgkin lenfoma ve ekstragonadal mediastinal germ hücreli tümör görülme riski artmıştır. Artan E_2/T oranına bağlı olarak jinekomasti görülebilir. Testisler genellikle normalden küçük ve sert kıvamlıdır. Metabolik sendrom, pulmoner emboli ve epilepsi, normal popülasyona göre daha sık görülür. Tipik klinik bulgularla birlikte infertilite ile kliniğine başvururlar. Semen analizinde çoğunlukla azospermi saptanmakla birlikte bazı hastalarda şiddetli oligoastenoteratospermi görülebilir. Spontan gebelik çok çok nadirdir. Karyotip analizi yapılması ile KS ortaya koyulur. Testiküler histoloji; seminifer tübüllerde hyalinizasyon, germinal hücre aplazisi, spermatogenez yokluğu ve Leydig hücre hiperplazisi şeklinde görülür. Nadir olarak spermatogenez gösteren odaklar görülebilir. Spontan gebelik son derece nadir olmasına rağmen, TESE ile sperm elde edilmesi (%69) sonrası ICSI ile gebelik oranları yüksektir [54, 81-83].

2.5.5.2.Y Kromozomu Mikrodelesyonları

Ağır oligoastenospermili ve azospermik hastalarda Y kromozomu mikrodelesyonları araştırılmalıdır. Y kromozomunun uzun kolunun belirlenmiş bölgeleri için yapılan PCR amplifikasyonu ile tanısı konulur. AZFa, AZFb, AZFc olmak üzere Y kromozomunda üç farklı bölge tanımlanmıştır (Şekil 2.). AZFc bölgesinde gr/gr isimli yeni bir bölge saptanmış olup infertil erkeklerin yanı sıra fertil erkeklerde de saptanabilmektedir. Ayrıca AZFc bölgesi içinde AZFd delesyonu tanımlanmıştır ancak klinik olarak anlamlı değildir. AZF gen delesyonları tüm infertil hastaların %1'inde, şiddetli oligospermili hastaların %10'unda ve NOA hastalarının %20'sinde bulunmaktadır. Prevalansı etnik kökene göre değişmektedir. AZFc gen delesyonları en sık (yaklaşık%65-70), AZFb gen delesyonları ikinci sıklıkta izlenir ve bunları AZFb+c ve AZFa+b+c takip eder. En nadir görüleni ise

AZFa gen delesyonlarıdır (%5). AZFa gen delesyonları, germinal hücre aplazisi ile ilişkili olması nedeniyle TESE ile sperm bulunması oranı oldukça düşüktür. Aynı şekilde AZFb gen delesyonlarında da TESE önerilmemektedir. AZFc gen delesyonu olan hastaların %3'ünde ejakülatta sperm bulunabilmektedir. AZFc mikrodelesyonu hastalarda TESE ile %58-75 başarı oranı ile sperm elde edilebilir. Gebelik sonrası Y kromozomu mikrodelesyonu, erkek bebeğe direkt olarak geçebileceğinden çiftlere genetik danışmanlık verilmelidir. Genellikle baba ve oğul aynı mikrodelesyonları taşırken bazen oğlu daha ağır bir mikrodelesyon taşıyabilir veya babadaki parsiyel mikrodelesyon oğlunda komplet mikrodelesyon olarak karşımıza çıkabilir [54, 81, 84-96].



Şekil 2. Azospermi Faktörü ve Y Kromozomu (Campbell-Walsh Urology, 10. Baskı, Bölüm 7, Kısım 21, syf: 641, 2011).

2.5.5.3. CFTR (Kistik fibrozis transmembran regülatör) Gen Analizi

Kistik fibrozis (KF), otozomal resesif geçişli olan ve CFTR genindeki mutasyona bağlı olarak gelişen bir hastalıktır. CFTR mutasyonunun en hafif formu konjenital bilateral vas deferens yokluğu (KBVDY) iken en ağır formu KF'dir. CFTR geni, iyon kanalı görevi yapan bir membran proteinini kodlar ve epididim distal 2/3'ünü, vas deferens, seminal vezikül ve ejekülatör kanalın formasyonunu etkiler fakat spermatogenez normaldir. Obstrüktif azospermik hastaların %6'sını, infertil erkeklerin %1-3'ünü KBVDY hastaları oluşturur. Bazı CFTR mutasyonlarında unilateral vas deferens yokluğu mevcut olabilir. Bu hastalar genellikle fertildir ve tesadüfen fark edilirler. KBVDY'nin en sık nedeni KF olmasına rağmen KBVDY'si olan hastaların %70'inde KF kliniği saptanmamaktadır. KBVDY klinik tanısı zordur.

Seminal veziküllerin olmamasına bağlı olarak ejakülat hacmi düşük ve ejakülat pH'sı asidiktir. KBVDY'li erkekler renal anomaliler açısından da değerlendirilmelidir. Bu grup hastalar ICSI ile çocuk sahibi olmak istediklerinde eşleri CFTR bakımından değerlendirilmeli ve KF veya KBVDY'nin çocuklarında görülebileceği hakkında bu ailelere genetik danışmanlık verilmelidir [54, 81, 94].

2.6. Testis Biyopsilerinin Değerlendirilmesi

Testis biyopsilerinin, testisin genelini yansıtacak uygun şekilde fiksasyonu ve gönderilmesi gerekmektedir. Açık testis biyopsilerinde alınan örneğin boyutu 3mm'den büyük olmalıdır. Matürasyon derecesinin belirlenmesinde ve tanı koymada başarı sağlanması için bouin solüsyonu tercih edilmelidir.

Biyopsilerde karşılaşılabilecek histopatolojik tanılar:

1) Normal spermatogenez

2) Sertoli Cell Only (SCO) sendromu: Genellikle küçük volümlü testisler ve yüksek FSH düzeyleri mevcuttur. Germ hücrelerinden tamamiyle yoksun, küçük seminifer tübüllerin bulunduğu histopatolojik görünüme germ hücre aplazisi de denilmektedir. SCO sendromlu hastalarda testislerde fokal düşük düzeyde spermatogenezin bulunması mTESE için umut vermektedir.

3) Germ hücre aplazisi ve fokal spermatogenez

4) Matürasyon arresti: Sperm maturasyonunun, spermatogenezin herhangi bir aşamasında duraksamasıdır.Genellikle geç spermatid veya primer spermatosit aşamasında duraksama olur. Tam maturasyon arrestinde azospermi görülürken, parsiyel maturasyon arrestinde ise ağır oligospermi ile prezente olur. Sertoli hücreleri, leydig hücreleri ve bazal membran genellikle normaldir. HHG aksı intakt olmasından dolayı FSH ve inhibin düzeyleri de genellikle normaldir. Normal testis volümü ve hormon profilinde bozukluk olmadan infertilite nedeniyle kliniğe başvurabilirler.

5) Hipospermatogenez: Histolojik kesitlerde spermatogenezin tüm basamakları mevcut olmasına rağmen tüm germ hücrelerinin sayısı azalmıştır.

6) Yaygın tübüler hyalinizasyon

7) Germ hücre deskuamasyonu

Azospermik hastalarda en sık karşılaşılan tanı hipospermatogenezdir. Bununla birlikte matürasyon arresti, fokal spermatogenez ve SCO sendromu da daha az sıklıkla görülebilmektedir [54].

2.7. Azospermik Hastanın Değerlendirilmesi

Azospermi, ejakülatta spermlerin total yokluğu olarak tanımlanmaktadır. Azosperminin insidansı genel toplumda %1, infertil erkeklerde ise %10-15'tir [1, 2]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2010 guideline'ına göre azospermi tanısı koyabilmek için en az iki semen örneği gerekmektedir. Azospermi iki grupta incelenir; obstrüktif azospermi (OA) ve nonobstrüktif azospermi (NOA) (yetersiz hormonal uyarı ve spermatogenezde sorun oluşmasına bağlıdır). Etiyolojiye göre ise azospermi üç gruba ayrılır; pre-testiküler, testiküler ve post-testiküler [97]. Pre-testiküler nedenler spermatogenezi etkileyen endokrin anormalliklerdir. Testiküler nedenler spermatogenezin testisteki intrinsik bozukluklarından kaynaklanır. Post-testiküler nedenler ise rete testis ile ejekülatuar kanal arasında herhangi bir seviyede obstrüksiyon veya ejekülatuar disfonksiyona bağlıdır. Fertilite beklentisi olan azospermik hasta için medikal öykü, fizik muayene, endokrin ve genetik testler ve en az iki semen analizi sonrası sperm elde etme metodlarından birinin uygulanması gerekmektedir [1].

İnfertilite değerlendirilmesi yapılan erkeklerin %10'unda azospermi ve azospermisi olan hastaların %60'ında NOA bulunmaktadır [3]. NOA'nın etyolojisinde genetik bozukluklar (örneğin seks kromozomu anomalileri), Y kromozomundaki translokasyonlar ve mikrodelesyonlar, kriptorşitizm, torsiyon, radyasyon, toksinler, varikosel ve idiyopatik nedenler yer almaktadır [4, 5]. OA olan

hastalarda testis hacmi ve hormonal düzeyler normal sınırlardadır. Patognomonik olarak fizik muayenelerinde dilate ve kalınlaşmış epididim ile palpe edilemeyen vaz deferens ve semen analizinde ph<7.0, volüm <1,5 cc ve düşük düzeyde fruktoz saptanmaktadır [7, 13, 52, 98]. NOA hastalarında ise genellikle testis volümü azalmış, FSH artmış ve testosteron düzeyi normal veya azalmıştır. Fizik muayene bulguları, etiyolojiye göre değişiklik gösterebilmektedir. Semen volümü azalmış olabilmekle birlikte normal veya artmış olarak da saptanabilir [6].

Bazı hastalarda ise testis volümü, ejekülat volümü ve hormon profili normal olduğu halde klinik olarak OA veya NOA olup olmadığının ayrımı yapılamamaktadır [6, 7]. Bu durumda ayırıcı tanıda biyopsiye ihtiyaç duyulabilmektedir. Bu hastalar, biyopsi sonucu normal spermatogenez olarak gelirse OA, hipospermatogenez veya matürasyon arresti veya Sertoli Cell Only (SCO) sendromu olarak gelirse NOA tanısı almaktadır [7].

OA'de alttan yatan patolojilerin düzeltilebilmesi çoğunlukla mümkün iken NOA'de konsepsiyon sağlanabilmesi için yardımcı üreme tekniklerinin kullanılması şarttır [6, 7].

2.8. Sperm Elde Etmede Kullanılan Yöntemler

Sperm elde etmede kullanılan yöntemler; perkütan, konvansiyonel ve mikrocerrahi yöntemler olarak sınıflandırılabilir. Perkütan sperm elde etme yöntemleri PESA (perkütan epididimal sperm aspirasyonu) ve TESA (testiküler sperm aspirasyonu), konvansiyonel sperm elde etme yöntemi cTESE (konvansiyonel testiküler sperm ekstraksiyonu), mikrocerrahi sperm elde etme yöntemleri ise MESA (mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu) ve mTESE (mikrocerrahi testiküler sperm ekstraksiyonu)'dir. [7, 99-101] Sperm elde etme yöntemlerinin başarısı; hasta grubunun özelliklerine, kullanılan yönteme ve yöntemi uygulayan cerrahın becerisine göre değişkenlik göstermektedir.

2.8.1. Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA)

1994'te Craft ve ark. tarafından, ICSI uygulanacak bir grup hasta için, ilk kez tanımlanmıştır [102]. Lokal anestezi altında epididim lokalize edilerek elle sabitlenir ve 23G ve 10ml ölçülerinde iğneyle epididimden aspirasyon yapılarak materyal laboratuara gönderilir. Başlangıçta hızlı uygulanabilir, minimal invaziv, ucuz ve kolay bir yöntem olması nedeniyle avantajlı gibi görünse de yeterli materyal (sperm) aspire edilememesi, vasküler yaralanmaların ve hematom oluşumunun diğer yöntemere oranla yüksek görülmesi nedeniyle günümüzde tercih edilmemektedir [103].

2.8.2. Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)

Belker ve ark. tarafından ilk kez tanımlanmış olan ve hem OA hem de NOA hasta grubunda kullanılabilen bir yöntemdir [13, 104]. Lokal anestezi altında, testiküler vaskülarizasyonun en az olduğu bölge olan testisin üst polünün anteromedial veya anterolateral kısmından skrotal ciltten testise 20g ve 1.5 inç iğne ile girilerek testisten aspirasyon yapılır ve alınan materyal laboratuara gönderilir. OA hasta grubunda bu yöntemle sperm elde edilme oranı %100 iken NOA hasta grubunda %27'dir. mTESE'nin kullanımıyla birlikte yalnızca OA hasta grubunda tercih edilmeye başlanan bu yöntem, yeterli sperm elde edilememesi ve hematom riskinin yüksek olması gibi sebeplerle günümüzde tercih edilmemektedir [6].

2.8.3. Konvansiyonel Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (cTESE)

Devroey ve ark. tarafından ilk kez 1995'te tanımlanmıştır [100]. Lokal anestezi altında intravenöz sedasyon ile yapılabileceği gibi epidural anestezi altında da yapılabilir. Daha büyük olan veya preoperatif biyopsi yapıldıysa biyopside spermatogenezin daha iyi olduğu tespit edilen testis tarafında ön taraftan skrotal cilt, dartos ve tunica vaginalis'e 2 cm'lik transvers kesi açılır. Sonrasında tunica albuginea'ya 1 cm'lik kesi açılır. Testis parenkiminden keskin makasla yaklaşık 5x5 mm'lik parça alınarak mediuma koyulur. Tekli veya çoklu parçalar alınabilir. Sperm elde edilmesinde TESA'ya göre yaklaşık iki kat daha başarılıdır, mTESE ise

cTESE'ye göre %17 daha başarılı olarak bulunmuştur [105]. NOA'da cTESE ile %36 oranında başarı elde edilebilmektedir. Ostad ve ark. yaptığı çalışmada ise tek biyopsi alınan hastalarda cTESE başarısının %23 olduğu ve bu oranın ancak çoklu biyopsilerle arttığı gösterilmiştir [106].

2.8.4. Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu (MESA)

1985'te Temple-Smith tarafından ilk kez tanımlanmıştır [107]. Testis, 2-3 cm'lik transvers skrotal kesiden dışarı açılır. Epididimal tunika insize edilir ve geniş görünümlü tübül diseke edilerek keskin mikrocerrahi makası ile açılır. Açılan tübülden çıkan sıvı, silikon bir tüp yardımıyla veya tüberkülin şırıngasına takılı kör bir iğne aracılığıyla aspire edilir. Aspirat, uygun ısıda medium içeren tüpe boşaltılır ve incelenmek üzere laboratuara gönderilir. Yeterli sayıda motil sperm elde edilene dek aynı epididimin kaputtan kaudaline kadar veya diğer taraftaki epididimden, aynı operasyon sırasında, işlem tekrarlanabilir. Sperm elde etme oranları MESA'da %90'ın üzerindedir [6]. Eğer MESA'da motil sperm elde edilemezse, yine aynı operasyon sırasında TESA veya mTESE'ye geçilebilir [107, 108].

2.8.5. Mikrocerrahi Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (mTESE)

mTESE ilk olarak 1999'da Shlegel ve Li tarafından tanımlanmış bir tekniktir [8]. Lokal anestezi altında intravenöz sedasyon ile yapılabileceği gibi epidural anestezi altında da yapılabilir. Öncelikle damarları görüntüleyebilmek ve tunica albugineaya geniş bir insizyon açabilmek için avasküler bir bölge tayin etmek amacıyla mikroskopta 6-8x büyütmede bakılır. Tunica albuginea, ekvatoral planda kesilerek, antimezenterik bir kesiyle testiküler devaskülarizasyona neden olma riski ortadan kaldırılmakla birlikte semifer tübüllere ulaşmak da kolaylaşır [13]. Sonrasında daha opak, beyazımsı ve büyük olan seminifer tübüllerini görüntüleyebilmek amacıyla 16-25x büyütmede bakılır. Testisin süperfisiyel ve derin kısımları incelenir. Eğer geniş tübüller görülmüyorsa, diğerlerine göre daha farklı görünümde olan tübüller alınır. Eğer tüm tübüller aynı görünüyorsa, testisin her polünden random biyopsiler alınır veya gerekli görülürse diğer testise geçilir [3, 13, 108]. mTESE, tekli biyopsi veya çoklu random biyopsiye göre daha başarılı bir

yöntemdir [8]. NOA'da ejekülatta sperm bulunmamakla birlikte, matür spermatozoa testiste dağınık odaklar şeklinde bulunabilmektedir [13]. Bu nedenle, sperm elde edebilmek için mTESE yönteminin kullanılmasıyla çoklu odaklarda sperm aranması başarıyı artıracaktır [109-111]. NOA'da mTESE ile sperm elde etme oranı %35 ile %75 arasında değişmektedir [8-12]. Ayrıca cTESE'de başarısızlık yaşandıktan sonra yapılan mTESE'de sperm bulunması %44 oranındadır [112].

Sperm elde etme yöntemlerinde komplikasyon oranları %0-70 arasında değişmektedir. Şişlik, ağrı, enfeksiyon, hematom ve hidrosel en sık karşılaştığımız komplikasyonlardır[10]. İntraoperatif ve postoperatif komplikasyonların en az görüldüğü teknik ise mTESE'dir [10, 13, 14]. Hem mTESE hem de cTESE'de serum T düzeyleri postoperatif 3. ayda ve 6. ayda %20 oranında düşmekle birlikte 12. ayda preoperatif değerin %85'ine, 18. ayda preoperatif değerin %95'ine kadar artmaktadır [9].

2.9. mTESE'de Sperm Elde Etme Başarısını Etkileyen Prediktif Faktörler

2.9.1. FSH

Hipotalamustan salgılanan GnRH'ın uyarısıyla, hipofizden salgılanan glikoprotein yapılı bir hormondur. Sertoli hücreleri üzerindeki reseptörlere bağlanarak inhibin, aktivin gibi hormonların ve germ hücre matürasyonu için gereken faktörlerin salınımını uyararak etki gösterir [113]. FSH düzeyi spermatogenez yokluğunun ancak son aşamalarında artar. Spermatogenezin normal veya anormal olduğunu gösteren bir FSH cut-off değeri yoktur ancak FSH'sı yüksek olan azospermik hastalarda sperm elde etme başarısının daha düşük olduğu gösterilmiştir [114, 115]. Shlegel ve ark. ise yaptıkları bir çalışmada FSH'sı yüksek olan hastalarda, düşük olanlara benzer veya daha yüksek oranda sperm elde edildiğini tespit etmişlerdir [115]. FSH düzeyi normal olan azospermik hastalarda ise sperm elde etme yöntemi uygulanmadan önce rekombinant FSH verilmesinin yöntem başarısını artırdığı gösterilmiştir [116]. FSH ile ilgili araştırmalardaki bu bariz tezatlıklar, FSH'nın total testiküler fonksiyonun bir göstergesi olmasıyla açıklanabilir

[115]. FSH düzeyi testisteki total germ hücre sayısıyla ters orantılıdır ancak spermatogenezin ileri aşamalarıyla doğrudan ilişkili değildir [2]. Fokal SCO sendromu ve hipospermatogenez gibi durumlarda FSH normal düzeyde olabileceği gibi FSH düzeyinin yüksek olması sperm içeren seminifer tübüllerinin varlığını yansıtmayabilir [117]. Bu nedenle, özellikle de mTESE gibi spermatogenezin yüksek olduğu seminifer tübüllerinin seçildiği bir yöntem kullanılacaksa, FSH yüksekliği bir kontrendikasyon olarak algılanmamalıdır [3].

Yapılan çalışmaların çoğu FSH'nın sperm elde etme yönteminin başarısında prediktif değeri düşük veya prediktif değeri bulunmayan bir marker olduğunu ortaya koymuştur.

2.9.2. İnhibin B

İnhibin B sertoli hücrelerinden sentezlenen glikoprotein yapılı bir hormondur. FSH'ya negatif feedback vermektedir. Spermatogenezin düşük düzeyde olduğu ve testiküler disfonksiyonu olan erkeklerde inhibin seviyesi düşüktür. İnhibin B düzeyi, spermatogenezin derecesiyle doğru orantılıdır [3]. Yapılan bazı çalışmalarda inhibin B'nin sperm elde etme başarısını öngörmede değerli bir marker olabileceği ortaya koyulmuştur. Ballesca ve ark. inhibin B'nin NOA'da TESE başarısını öngörmede %90 sensitivite ve %100 spesifisiteye sahip olduğunu göstermiştir. FSH'ya göre daha sensitiv bir marker olmakla birlikte yapılan çalışmaların birçoğu inhibin B'nin tek başına bir prediktif marker olarak kullanılabileceği görüşünü çürütmektedir [118-120]. Tunç ve ark. başarılı ve başarısız sonuçlanan TESE'lerde inhibin B'nin spesifisitesini %14 kadar düşük bir değer olarak bulmuşlardır [121]. Benzer bir şekilde Vernae ve ark. da başarılı ve başarısız TESE'lerde inhibin B düzeyinin prediktif değeri olmadığını ortaya koymuşlardır [119]. İnhibin B'nin TESE sonuçlarını öngörmede diğer markerlarla beraber kullanımı anlamlı olabilmekle birlikte tek başına bir marker olarak NOA hastalarında mTESE öncesi kullanılmamaktadır [3].

2.9.3. Testis Volümü

Testis boyutunun büyük olması, normal spermatogenezin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir ve bu durumun tersi ise NOA hastaları için geçerlidir. Bu nedenle testis volümü ile TESE ve mTESE başarısı arasında pozitif korelasyon olduğu daha önce gösterilmiş olsa da [122, 123]. prediktif değeri açısından tutarlı bir parametre değildir [124]. Küçük testis, sperm elde etme yöntemi uygulanması açısından bir kontrendikasyon oluşturmadığı gibi beraberinde mevcut olan erken yaş ve Kleinefelter sendromu (KS) varlığında sperm elde edilmesi ihtimali artmıştır [125]. Ek olarak NOA hastalarında erken veya geç matürasyon arresti histolojisi mevcut olduğunda testis boyutu normal olabilir. Küçük testis volümü, tıpkı FSH'da olduğu gibi, özellikle de mTESE'nin başarılı olabileceği seminifer tübüllerinin varlığını yansıtmayabilir [59].

2.9.4. Genetik

Y kromozomu mikrodelesyonları infertil erkeklerin yaklaşık %8'inde pozitiftir ve en sık AZFc olarak karşımıza çıkar [2]. AZFa ve AZFb mikrodelesyonları pozitif olan hiçbir hastada sperm eldesi mümkün olmamaktadır. İzole AZFa delesyonları nadir olmakla birlikte SCO sendromu histolojisi ile karakterize olduğunda ve komplet AZFb delesyonlarında sık görülen histolojik patern olan matürasyon arresti varlığında spermatogenezin olmaması durumunda mTESE kontrendikedir [2, 95, 126]. AZFc gen delesyonlarında ise %71 oranında sperm elde edilebilmektedir [127]. Tüm bu bilgiler doğrultusunda, mTESE öncesi genetik değerlendirme yapılması önerilmektedir [3].

2.9.5. Klinefelter Sendromu (KS)

İnfertil erkeklerde görülen en sık genetik anormalliktir. Nonmozaik olanlar azospermiktir ancak mTESE ile sperm eldesi bu hasta grubunda son derece başarılıdır. Serum FSH, LH ve testis volümünün KS'de sperm elde etme başarısında prediktif değeri olmadığı düşünülmektedir. Normal testosteron düzeyine sahip olan hastalarda sperm elde etme oranı %85'lere kadar çıkabilmektedir [3]. Shlegel ve ark.

yayınladığı nomogramlara göre 40 yaşında, testis völümü 2ml olan bir hastada KS olması durumunda sperm elde etme başarısı %70-80'lerde iken eğer KS yoksa bu oran <%50 olmaktadır [128].

Yaş: Erkeğin yaşı ilerledikçe NOA'nın muhtemel sekonder infertiliteye bağlı olarak, konjenital değil de edinsel olma oranı artmaktadır. Ancak erkeğin yaşı ve fertilite üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar kısıtlıdır ve yaş için spesifik bir sınır değer bulunmamaktadır. Bununla birlikte paternal yaş 45-50 yaşa geldiğinde muhtemelen spermatogenez alanlarının fokal kaybına bağlı olarak [125] sperm parametrelerindeki bozukluklardan kaynaklanan düşük gebelik oranları görülmektedir [129].

2.9.6. Kriptorşidizm

Kriptorşidizmli hastalarda sperm elde etme başarısı (%74), diğer NOA hastalarına (%58) oranla daha yüksektir. Diğer NOA hastalardan farklı olarak kriptorşidik hastalarda testiküler volüm ve orşiopeksi yaşı ile sperm elde etme başarısı arasında korelasyon bulunmaktadır [3, 130].

2.9.7. Varikosel

Sperm kalitesini düşürmekte ve azospermiye neden olabilmektedir. Bu nedenle sperm elde etmek için uygulanacak cerahi yöntem öncesinde varikosel düzeltilmelidir. Varikoselektominin azospermik hastada TESE başarısını %10 kadar artırmakla beraber ejekülattaki sperm miktarını da artırdığı gösterilmiştir. Ancak mTESE başarısını etkilemediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [3, 131, 132]. Bununla birlikte genel görüş, sperm elde etmek üzere uygulanacak cerrahi öncesi varikoselektomi yapma yönündedir.

2.9.8. Histopatoloji

Tek başına histopatoloji preparatı sperm elde etme başarısını öngören göstergelerden en güçlüsüdür [133-135]. SCO sendromu olan hastalarda sperm bulunma oranı hipospermatogenez ve matürasyon arresti olan hastalara göre belirgin

derecede düşüktür [2, 136]. KS hastada ise histopatolojide seminifer tübüllerde sklerotik değişikliklerin bulunmaması en istenen durum olup SCO sendromu bulunması durumunda sperm elde etme oranı %70'lerdedir [3].

Sperm elde etme yöntemi uygulamadan önce, yöntem başarısını öngörmek amacıyla biyopsi yapılabilir. Preoperatif olarak yapılan biyopside sperm bulunması durumunda sperm elde etme yönteminin başarısı %90'lardadır. Özellikle de biyopside matür spermatozoa varlığı önemli bir pozitif prediktif belirteçtir [2, 137, 138]. Benzer şekilde, tekrarlayan sperm elde etme yöntemlerinde başarıyı öngörmede en önemli faktör, önceki yöntemde raporlanan histopatoloji sonucudur (özellikle de hipospermatogenez olarak raporlandıysa başarı şansı artmaktadır) [2, 139]. Ancak biyopsinin kendisi de girişimsel bir işlem olduğu için ağrı, enfeksiyon, devaskülarizasyon, kanama ve hematom gibi komplikasyonlara neden olabilir [2, 139]. Biyopsi ve diğer çoklu cerrahi girişimlerin fibrozis ve otoimmün reaksiyonları tetiklemesi de muhtemeldir [140].

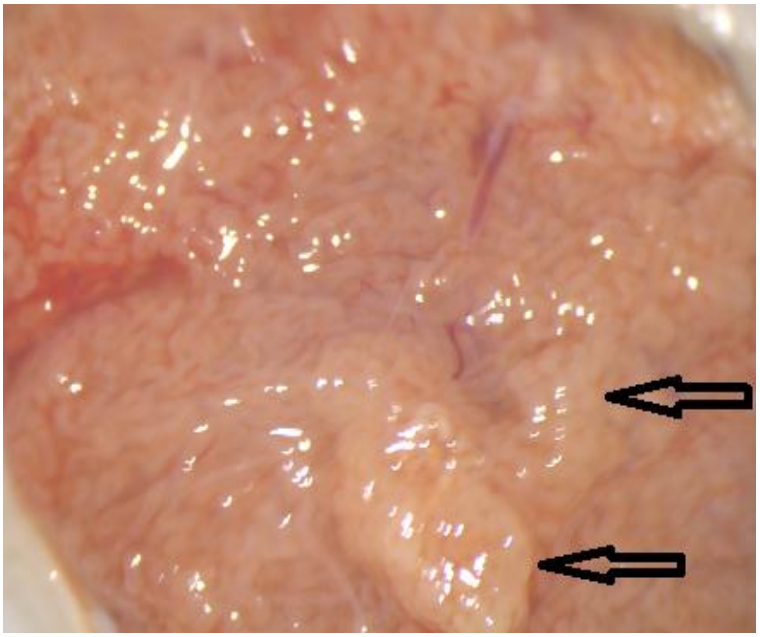
3. MATERYAL ve METHOD

Çalışmamız prospektif bir çalışma olup, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındıktan sonra, 01.06.2013 ile 01.06.2015 tarihleri arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezine yardımcı üreme teknikleri için (YÜT) başvuran ve erkek partnerde NOA saptanan 102 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastalardan detaylı tıbbi hikayeleri alınıp detaylı fizik muayeneleri yapıldı. Hastaların yaşı, infertilite süreleri, ek hastalık varlığı sorgulandı. Hastaların testis volümleri Prader orşidometrisi ile ölçüldü. Hastaların 15 gün ara ile en az 3 en fazla 5 günlük cinsel perhiz süresiyle 3 adet semen örneği Makler® sperm sayma kamerası ile analiz edildi. Spermiyogram ölçümleri kliniğimiz Androloji Laboratuarında aynı biyolog tarafından bakıldı. Sperm toplamak için düzenlenmiş olan odamızda mastürbasyon ile elde edilen semen örnekleri steril kaplarda toplandı. Semenin likefaksiyonu için yaklaşık 30 dakika beklendikten sonra Nüve™ marka NF 800 santrifüj cihazında 15 dakika süreyle 600 devirde santrifüj edildi. WHO kriterlerine göre sperm konsantrasyonu ve motil sperm yüzdesi belirlendi. Semen örnekleri 37ºC'de bekletildi ve hareketlilik değerlendirmesi ejakülasyondan sonra 30 dakika içinde oda sıcaklığında yapıldı. Sonrasında örneklerden mikropipet ile alınan 1 damla, lam ve lamel arasında yayılarak 40x büyütmede Olympus® marka ışık mikroskobunda incelendi. Bu işlemin ardından semen örneğinden alınan 1 ml, 20 ml serum fizyolojik ile seyreltilerek Thoma® lamına yayılıp ışık mikroskobu altında 40x büyütme ile en az 8 alan taranarak sperm sayısı hesaplandı. Eğer sayım esnasında sperm saptanmadıysa azospermi tanısını netleştirebilmek için elimizdeki tüm semen örneğini 10 ml serum fizyolojik ile karıştırarak 15 dakika boyunca 1500 devir ile Nüve™ marka NF 800 santrifüj cihazında santrifüj edildi. Çöktürülen materyal alınıp, ardından tekrar 10 ml serum fizyolojik ile seyreltilerek 15 dakika boyunca 1500 devirde santrifüj edilen örnek Thoma lamına alınarak lamın tüm alanları incelendi.

Hastaların FSH, LH, prolaktin ve testosteron (T) plazma düzeylerinin ölçülmesi için sabah 08:00-10:00 arasında açlık kan numuneleri alınarak biyokimya tüplerine konulup biyokimya laboratuvarında çalışıldı. Biyokimya tüpüne alınan

kanda FSH, LH, PRL ve Testosteron ölçümü Beckman Coulter marka DXI 800 otoanalizöründe ölçüldü.

Tüm hastaların karyotip analizi yapıldı ve Y kromozom mikrodelesyonarı açısından hastalar araştırıldı. Tüm hastalara aynı ameliyat ekibi tarafından mTESE operasyonu uygulandı. Genel anestezi altında rapheye paralel olarak tek taraflı yaklaşık 5 cm insizyonla katlar geçilerek tunika albuginea açılarak testis dışarı alındı. Öncelikle epididim tunikası açılarak tüm hastalara mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA) yapıldı. MESA'da yeterli sperm elde edilenlere MESA sonrası mTESE yapılmadı. MESA ile yeterli sperm elde edilemeyen olgularda ise testis orta bölüme yakın bölgeden mikroskop altında 6-8x optik büyütme ile damarsız alandan geniş bir kesi yapıldı. Mikroskopta x20-25 optik büyütmede yaklaşık 10 adet parlak, beyaz ve geniş tübüller seçilerek mikropenset eşliğinde toplandı (Şekil 3.). Doku örnekleri operasyon sırasında odada bulunan ekibe 1 ml medyum içerisine konularak teslim edildi. Tüm hastalardan alınan dokular aynı embriyolog tarafından değerlendirildi. mTESE işlemi sonucu alınan dokular embriyolog tarafından iki iğne yardımıyla diseke edildi. Diseke edilen dokular; 200 veya 400 kat büyütme altında mikromanipülatörde sperm arandı.



Şekil 3. Kliniğimizde mTESE Operasyonunda Çekilen Bir Görüntü. Ok ile Gösterilen Alanlar, Dilate ve Parlak Görünümlü Seminifer Tübüllerini Göstermektedir.

Histopatolojik tanı için testisten intraoperatif bir adet biyopsi alınarak Bouin solüsyonuna konulup patolojiye gönderildi. Kanamalar için bipolar koter kullanıldı. Tüm hastalarda mTESE, volümü ve kıvamı daha iyi olan testise uygulandı. Daha sonra hastalar sperm elde edilenler ve sperm elde edilemeyenler olarak iki gruba bölündü ve bu iki grup testis volümleri, hasta yaşları, serum T, LH, FSH, PRL düzeyleri, karyotip analizleri, AZF mikrodelesyonu olup olmaması ve testiküler histopatoloji açısından karşılaştırıldı.

İstatistik: Verilerin analizinde SPSS v20 programı kullanıldı. Kategorik veriler sayı ve yüzde, numerik veriler ise ortalama ve standart sapma olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov testi ve histogram grafikleme yöntemi ile araştırıldı. Normal dağılıma uymayan numerik değişkenlerin analizinde Kruskal Wallis tek yönlü varyans analizi ve Mann-Whitney U testi, kategorik değişkenlerin analizinde ise Ki Kare testi kullanıldı. Çoklu gruplar arasında anlamlı sonuç bulunduğunda farkın hangi gruplar arasından kaynaklandığını ortaya koyabilmek için Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi yapıldı. Analizlerde $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 102 hastanın, mTESE ile, 64'ünde (%62,7) sperm bulundu, 38'inde ise (%37,3) sperm bulunamadı. Ortalama hasta yaşı sperm bulunan hastalarda 34,7±5,68, sperm bulunamayan hastalarda 35±7,56 olarak hesaplandı. Sperm bulunan hastalarda ortalama infertilite süresi 6±3,87 yıl, sperm bulunamayan hastalarda ise 6,4±3,73 yıldır. Yaş ve infertilite süreleri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla p=0,896 ve p=0,357).

Sperm bulunan grupta serum T düzeyi ortalaması 2,96±1,08 ng/ml, sperm bulunmayan gruptaki hastaların serum testesteron düzeyi ortalaması ise 3,15±1,3 ng/ml olarak tespit edildi ve iki grubun serum T düzeyleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,504).

Sperm bulunan grupta PRL düzeyi ortalaması 8,11±4,07 ng/ml, sperm bulunmayan grupta ise 9,85±5,11 ng/ml olarak tespit edilmiş olup bu iki grubun serum PRL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,179).

FSH ve LH median değerleri sperm bulunan grupta sırasıyla 12,15 (64,7-0,48) ve 5,66 (28,2-0,28) mIU/ml, sperm bulunmayan grupta ise sırasıyla 23,85 (67,6-0,97) mIU/ml ve 10,10 (22,5-0,46) mIU/ml olarak tespit edildi. Sperm bulunan ve bulunmayan gruplar arasında FSH medyanları (p=0,004) ve LH medyanları (p=0,001) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.

Sperm bulunan ve bulunmayan grupta ortalama testis volümleri kıyaslandığı zaman sırasıyla 16,97±5,16 ml ve 14,50±5,19 ml olarak tespit edildi. Bu iki grubun medyanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptandı (p=0,029) (Tablo 3).

mTESE uygulanan testisin boyutunun 15 ml ve üzerinde olması normal kabul edildiği zaman testis boyutu normal olan grup ve normal olmayan grup arasında FSH ve LH medyanları açısından anlamlı fark olduğu görüldü (p<0,05) (Tablo 4).

Tablo 3. mTESE ile Sperm Elde Edilebilen (Sperm (+)) ve Sperm Elde Edilemeyen (Sperm (-)) Gruplar Arasında FSH, LH, PRL ve T Düzeyleri, Yaş, Testis Volümü, İnfertilite Süresi Ortalamalarının Kıyaslanması (p<0,05 İstatistiksel Olarak Anlamlıdır).

Değişkenler	**Ortalama değerler**		**p değeri**
	Sperm (+)	**Sperm (-)**	
Yaş	34,7 ±5,68 yaş	35±7,56 yaş	0,896
FSH	12,15 (64,7- 0,48) mIU/ml	23,85 (67,6- 0,97) mIU/ml	**0,004**
LH	5,66 (28,2-0,28) mIU/ml	10,10 (22,5-0,46) mIU/ml	**0,001**
Testis volümü	16,97±5,16 ml	14,50±5,19 ml	**0,029**
İnfertilite süresi	6 ± 3,87 yıl	6,4±3,73 yıl	0,357
Testosteron	2,96±1,08 ng/ml	3,15±1,3 ng/ml	0,504
PRL	8,11±4,07 ng/ml	9,85±5,11 ng/ml	0,179

Tablo 4. Testis Boyutu Normal Olan (≥15 ml) ve Olmayan (<15 ml) Grupların FSH ve LH Ortalama Değerlerinin Kıyaslanması (p<0,05 İstatistiksel Olarak Anlamlıdır).

Ortalama değerler	**Testis Boyutu**		**p değeri**
	≥15 ml (Normal)	**<15 ml**	
FSH	16,7(±15,34)	30,6(±16,16)	0,000
LH	6,4(±4,54)	11,8(±5,78)	0,000

Sperm elde edilen gruptaki hastaların mTESE sırasında raporlanan histopatolojik incelemeleri sonucu 46 tanesinde hipospermatogenez, 15 tanesinde sertoli cell only sendromu ve 3 tanesinde matürasyon arresti olduğu tespit edildi. Sperm elde edilemeyen gruptaki hastaların ise 6 tanesinde hipospermatogenez, 25 tanesinde sertoli cell only sendromu ve 7 tanesinde matürasyon arresti olduğu tespit edildi. mTESE'de sperm elde edilen ve edilemeyen gruplardaki hipospermatogenez tanılı alt gruplar kendi aralarında FSH düzeyi, T düzeyi ve testis volümü ortalamaları açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05). Benzer şekilde mTESE'de sperm elde edilen ve edilemeyen gruplardaki sertoli cell only sendromu (p>0,05) ve matürasyon arresti (p>0,05) alt grupları da kendi aralarında kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görülmüştür.

Hipospermatogenez, SCO sendromu ve matürasyon arresti grupları arasında mTESE sonucu sperm bulunma durumları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$). Yapılan ikili karşılaştırmalarda bu farkın hipospermatogenez-SCO sendromu ve hipospermatogenez-matürasyon arresti grupları arasındaki farktan kaynaklandığı tespit edildi ($p<0,001$) (Tablo 5).

Tablo 5. Histopatolojik Tanıların (Hipospermatogenez, Sertoli Cell Only Sendromu ve Matürasyon Arresti), mTESE'de Sperm Elde Edilen ve Edilemeyen Gruplar Arasında Kıyaslanması ($p<0,05$ İstatistiksel Olarak Anlamlıdır).

Histopatolojik Tanılar	Sperm (+)/(-)	Hasta Sayısı	Sperm Elde Edilme Oranları (%)
Hipospermatogenez*	(+)	46	88,5
	(-)	6	11,5
Sertoli Cell Only (SCO) Sendromu**	(+)	15	37,5
	(-)	25	62,5
Matürasyon arresti***	(+)	3	30
	(-)	7	70

(* ve ** arasında sperm elde etme oranları kıyaslandığında $p<0,001$.)
(* ve *** arasında sperm elde etme oranları kıyaslandığında $p<0,001$.)

Çalışmamızda, ilk mTESE'de sperm elde edilememiş olan 4 hastaya 6 ay süreyle HCG hormonoterapisi verildikten sonra salvage mTESE uygulandı. Bu 4 hastanın 1 tanesinde salvage mTESE'de sperm elde edildi. Ancak hasta sayısının yeterli olmaması nedeniyle istatistiksel analizi yapılamadı.

Çalışmamıza dahil olan 102 hastanın 9 tanesinde nonmozaik Klinefelter sendromu (KS), 3 tanesinde AZFc mikrodelesyonu, 1 tanesinde AZFa mikrodelesyonu saptandı. KS'li 9 hastaya yapılan mTESE sonucu 3 hastada sperm bulundu, diğer 6 hastada ise sperm bulunamadı. AZFc mikrodelesyonu olan 3 hastadan da mTESE ile sperm elde edildi. AZFa mikrodelesyonu olan hastadan mTESE ile sperm elde edilemedi. Ancak hem KS'li hasta sayımızın hem de AZFa ve AZFc mikrodelesyonu olan hasta sayılarımızın yetersiz olması nedeniyle istatiksel analiz yapılamadı.

Çalışmamızda 102 hastanın 6'sında kriptorşidizm nedeniyle geçirilmiş orşiopeksi hikayesi mevcuttu, bu 6 hastanın 4'üne bilateral diğer 2'sinde unilateral orşiopeksi hikayesi mevcuttu. Unilateral orşiopeksi yapılan 2 hastaya uyguladığımız mTESE operasyonu kontralateral testise yapıldı. Bilateral orşiopeksili hastaların 2'sinde, unilateral orşiopeksili hastaların birinde mTESE de sperm elde edildi. Ancak hasta sayımızın yeterli olmaması nedeniyle çalışmamızdaki geçirilmiş orşiopeksi hikayesi olan hastalarda mTESE başarısının istatiksel analizi yapılamadı.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan 5 tanesine, grade III varikosel saptanması nedeniyle subinguinal mikroskopik varikoseletomi yapıldı. Varikoselektomi sonrası bu 5 hastada da tekrar azospermi saptanması üzerine mTESE yapıldı ve tamamında mTESE sonucu sperm elde edildi. Ancak çalışmamızdaki varikoselektomi sonrası mTESE yapılan hasta sayımızın yeterli olmaması nedeniyle, bu hastalardaki mTESE başarısı açısından istatiksel analiz yapılamadı.

Çalışmamızda, 102 hasta, mTESE yapılma tarihlerine göre iki gruba bölünerek, gruplar arasında mTESE ile sperm elde etme başarı oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığına bakıldı. Bu iki grup arasında ortalama serum T düzeyleri ($p=0,000$) dışındaki değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. mTESE ile sperm elde etme oranları bakımından da, bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

5. TARTIŞMA

İnfertilite nedeniyle polikliniğe başvuran hastada azospermi saptanması durumunda, azosperminin obstrüktif ya da non-obstrüktif olup olmadığı tespit edilmelidir. OA hastalarında etyolojiye yönelik tedavi planlaması mümkün olabilirken NOA hastalarında ancak sperm elde etme yöntemi uygulandıktan sonra yardımcı üreme teknikleri kullanılarak fertilite şansı olabilmektedir. Günümüzde NOA hastalarında sperm elde etme yöntemleri arasında en çok tercih edileni yüksek başarı ve düşük komplikasyon oranıyla mTESE'dir. NOA hastalarında mTESE yöntemi ile sperm elde etme başarısı %35-75 arasında değişmektedir.

Günümüze dek yapılan çalışmalarda NOA hastasını değerlendirirken; yaşı, serum FSH düzeyleri, serum testosteron düzeyleri, serum inhibin B düzeyleri, KS olup olmadığı, AZF mikrodelesyonu bulunup bulunmadığı, varikosel veya kriptorşidizm bulunup bulunmadığı gibi parametrelerle mTESE başarısı öngörülmeye çalışılmıştır. Ancak tek başına başarıyı öngören bir parametre bulunamamamıştır.

Erkek yaşının fertilite üzerine etkisi açısından spesifik bir değer bulunmamakla birlikte paternal yaş 45-50'ye geldiğinde düşük gebelik oranları görülmektedir [129]. Çalışmamıza dahil edilen 102 hasta, sperm elde edilen ve edilemeyen olmak üzere iki gruba bölündüğünde, her iki grubun yaş ortalaması birbirine yakın olup medyan değerleri sırasıyla 35,5 (19-50) ve 34 (25-62) olarak bulundu ve bu gruplar arasında istatiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak sperm elde edilemeyen grubun yaş üst sınırı 62 iken, sperm elde edilen grupta bu sınır 50 olarak tespit edildi.

mTESE genellikle bilateral yapılmakta ve bir testiste sperm elde edilemez ise, karşı testise geçilmekte ve aynı işlemler bu testiste de tekrarlanmaktadır. Amer ve ark. yayınladığı bir çalışmada sağ tetisin ve sol testisin histopatolojileri arasındaki farkın %21,7-23 oranında olduğunu, aynı testisin üst ve alt pollerinin histopatolojileri arasındaki farkın ise %6,6 olduğunu ortaya koymuşlardır [140]. Ancak bir testiste sperm bulunamaz ise, karşı testiste sperm bulabilme ihtimalinin son derece düşük

olması nedeniyle biz bu çalışmamızda mTESE'yi, boyutu daha büyük ve kıvamı daha iyi olan testise unilateral olarak uyguladık ve mTESE başarı oranını % 62,7 olarak saptadık. Geçirilmiş cerrahi sonrası testis kan akımının bozulması ve ultrasonografide bunu destekleyici anormallikler bulunması nedeniyle [141] testise 6 aydan önce ardışık cerrahi yapılmaması [140-142] önerilmektedir. Biz de bu sebeple gerekli görüldüğü taktirde 3-6 aylık hormonal manipülasyondan sonra diğer testise mTESE yapmayı planladık. Ancak ilk mTESE sonrası sperm bulunamaması sonucu hastaların umutsuzluğa kapılması, tekrar cerrahi operasyon geçirme konusunda kaygı duymaları, maddi imkanlarının kısıtlılığı veya hastaneye uzak mesafede yaşayan hastaların hastaneye tekrar müracaat etmek istememesi gibi çeşitli sebeplerle, yalnızca ilk mTESE'de sperm bulunamamış olan 4 hastaya 6 ay süreyle HCG tedavisi verdikten sonra salvage mTESE uygulayabildik. Bu 4 hastanın 1 tanesinde salvage mTESE'de sperm elde edebildik. Salvage mTESE'de birçok araştırmacı sperm elde etme oranını artırabilmek için cerrahi öncesi hormonoterapiyi savunmaktadır; fakat kanıt düzeyi düşük bir yaklaşımdır [139]. Cornell ve ark. yaptığı geniş bir retrospektif derlemede, hormonal manipulasyonun, sperm elde etme oranına veya canlı doğum oranına etkisi olmadığı ortaya koyulmuştur [143]. Ancak bizim çalışmamızda, preoperatif hormonal manipulasyon uygulanan hasta sayısının yeterli olmaması çalışmamız açısından kısıtlılık oluşturmaktadır.

Spermatogenezin normal olup olmadığını gösteren referans serum FSH düzeyi mevcut olmasa da serum FSH düzeyi yüksek olan azospermik hastalarda sperm elde etme başarısının daha düşük olduğu önceki bazı çalışmalarda gösterilmiştir [114, 115]. FSH düzeyi normal olan azospermik hastalarda ise sperm elde etme yöntemi uygulanmadan önce rekombinant FSH verilmesinin yöntem başarısını artırdığı gösterilmiştir [116]. Çalışmamızda mTESE ile sperm elde edilen ve edilemeyen gruplar arasında median FSH düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fark bulunması (p=0,004), bu çalışmaları doğrular niteliktedir. Ancak fokal SCO sendromu ve hipospermatogenez gibi durumlarda FSH normal düzeyde olabileceği gibi FSH düzeyinin yüksek olması sperm içeren seminifer tübüllerinin varlığını her zaman yansıtmayabilir [117]. FSH düzeyi testisteki total germ hücre sayısıyla ters orantılı olsa da spermatogenezin ileri aşamalarıyla

doğrudan ilişkili değildir [2]. Günümüze dek yapılan çalışmalar doğrultusunda FSH düzeyinin prediktif değeri olup olmadığı dahi tartışmalıdır ve özellikle mTESE gibi spermatogenezin yüksek olduğu seminifer tübüllerine selektif bir yöntem kullanıldığında yüksek FSH düzeylerinin varlığı bir kontrendikasyon olarak algılanmamalıdır [3].

Yapılan çalışmalarda serum T düzeyleri <300 ng/dl olan hastalarda hCG, tamoxifen, klomifen sitrat veya aromataz inhibitörleriyle yapılan hormonoterapi sonrası serum T düzeyinin >300 ng/dl'nin üzerine çıkarılması ile mTESE'de ilave %20-30 sperm elde edilebildiği bildirilmiştir [144-147]. Ancak Ramasamy ve arkadaşları tarafından yapılmış başka bir calışmada TESE öncesi T replasmanın etkisisini araştırmışlar. 1054 hasta uzerinde yapılan calışmada düşük T düzeyi (<300 ng/dl) ile normal T düzeyine sahip olgular arasında TESE başarısında anlamlı fark bulunmamıştır [143]. Biz de çalışmamızda, mTESE ile sperm elde edilebilen ve edilemeyen gruplar arasında serum T düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık (p=0,504). Son yıllarda yapılan çalışmaların sonuçları, serum T düzeyinin mTESE başarısında prediktif değeri olmamakla birlikte, intratestiküler testosteron (ITT) seviyesinin prediktif değer taşıyabileceği doğrultusundadır. Yüksek ITT seviyesi, spermatogoniaların tip A'dan tip B'ye geçişini sağlamaktadır [148]. ITT eksikliği, NOA nedenlerinden biridir ve hormonoterapi ile ITT düzeyi iyileştirilebilir. Yapılan çalışmalar, hCG hormonoterapisinden sonra ITT seviyesinin belirgin derecede arttığını göstermiştir. Serum T düzeyi ise ITT seviyesinin kesin bir göstergesi sayılamaz; bu doğrultuda serum T düzeyinin mTESE öncesi optimize edilmesinin anlamlı olup olmadığı tartışmalıdır [143, 144, 146]. Ancak düşük ITT düzeyinin optimizasyonu, özellikle de hipospermatogenez ve geç matürasyon arresti olgularında anlamlı derecede faydalı olabilmektedir [149].

İnhibin B düzeyi, spermatogenezin derecesi ile doğru orantılı olup yapılan bazı çalışmalarda inhibin B'nin sperm elde etme başarısında öngörmede bir belirteç olabileceği ortaya konmuştur. Ballesca ve ark. inhibinin B'nin TESE başarısını öngörmede %90 sensitif ve %100 spesifik olduğunu göstermiş olsa da yapılan çalışmaların birçoğunda inhibin B'nin tek başına prediktif bir belirteç olarak kulanılamayacağı savunulmaktadır [118-120]. Tunç ve ark. tarafından yapılan

çalışmada inhibin B spesifitesinin TESE başarısını öngörmede %14 kadar düşük bir değeri olduğu, benzer şekilde Vernae ve ark. tarafından yapılan çalışmada TESE başarısını öngörmede inhibin B düzeyinin prediktif değeri olmadığı ortaya koyulmuştur [120, 121]. Çalışmamızı yaptığımız merkezde rutin olarak inhibin B düzeyi bakılmamaktadır ve bu nedenle çalışmamıza dahil ettiğimiz NOA hastalara da serum inhibin B düzeyi ölçümü yapılmamıştır. Her ne kadar serum inhibin B düzeyi diğer belirteçlerle birlikte kullanıldığında TESE başarısını öngörmede değerli olsa da, tek başına prediktif değeri olan bir belirteç değildir [3].

Çalışmamıza dahil ettiğimiz 102 hastanın 9 tanesinde nonmozaik KS, 1 tanesinde AZFa mikrodelesyonu, 3 tanesinde AZFc mikrodelesyonu bulunmaktadır. KS'de mTESE başarı oranı %55'e kadar ulaşabilmaktedir [150]. T seviyesi düşük olan KS'li hastalarda aromataz inhibitörü, HCG veya klomifenle 2 ay süre ile yapılan tedavi sonrası uygulanan mTESE'de sperm elde etme başarısı %66 olarak tespit edilmiştir [128]. T düzeyi normal olan KS hastalarında ise sperm elde etme oranı %85' lere kadar çıkmaktadır [3]. KS'de yaş ilerledikçe sperm elde etme başarısı ve fertilizasyon oranı düşmektedir; ancak serum FSH, LH ve testis volümünün KS'de sperm elde etme başarısında prediktif değeri yoktur. KS'li 9 hastaya yapılan mTESE sonucu 6 hastada sperm bulunamazken, 3 hastada sperm bulunmuştur. KS'li hasta sayımızın yeterli olmaması nedeniyle istatiksel analizi yapılamamıştır. Çalışmamızdaki hastaların 1 tanesinde AZFa mikrodelesyonu, 3 tanesinde ise AZFc mikrodelesyonu tespit edilmiştir. İnfertil erkeklerin %8'inde AZF mikrodelesyonları pozitiftir ve en sık AZFc mikrodelesyonu bulunmaktadır [2]. AZFa mikrodelesyonlarında sperm eldesi mümkün değildir. Nitekim, çalışmamızda da AZFa mikrodelesyonlu hastamızdan mTESE ile sperm elde edilememiştir. AZFc gen delesyonlarında ise sperm elde etme oranı %71'dir [127]. Biz çalışmamızdaki AZFc mikrodelesyonu olan 3 hastadan da mTESE ile sperm elde edebildik. Ancak çalışmamızdaki AZFa ve aZFc mikrodelesyonlu hasta sayılarının yetersiz olması nedeniyle mTESE ile sperm elde etme başarısı açısından istatiksel analiz yapılamamıştır.

Çalışmamızda 102 hastanın 6'sında kriptorşidizm nedeniyle geçirilmiş orşiopeksi hikayesi mevcuttu, bu 6 hastanın 4'üne bilateral diğer 2'sinde unilateral

orşiopeksi hikayesi mevcuttu. Kriptorşidik hastalarda sperm elde etme başarısı %74'lere varmakta ve bu oran orşiopeksi yaşı ile korele olarak değişmektedir [130]. Unilateral orşiopeksi yapılan 2 hastaya uyguladığımız mTESE operasyonu kontralateral testise yapılmıştır. Bilateral orşiopeksili hastaların 2'sinde, unilateral orşiopeksili hastaların birinde mTESE de sperm elde edilmiştir. Ancak hasta sayımızın yeterli olmaması nedeniyle çalışmamızdaki kriptoorşidizmli hastalardaki mTESE başarısı açısından istatiksel analiz yapılamamıştır.

Küçük testis volümü, sperm elde etme yöntemi uygulanması açısından bir kontrendikasyon oluşturmamaktadır [125] ve testis volümünün prediktif değeri açısından tutarlı bir parametre olmadığı düşünülmektedir [124]. Küçük testis volümü, tıpkı FSH'da olduğu gibi, özellikle de mTESE'nin başarılı olabileceği seminifer tübüllerinin varlığını yansıtmayabilir [125]. Ek olarak NOA hastalarında erken veya geç matürasyon arresti histolojisi mevcut olduğunda testis boyutu normal olabilir [125]. Bununla birlikte, testis volümü ile mTESE başarısı arasında pozitif korelasyon olduğu daha önce gösterilmiştir [122, 123]. Çalışmamızda, Sperm bulunan ve bulunmayan grupta ortalama testis volümleri kıyaslandığı zaman, bu iki grubun medyanları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğu saptandı ($p=0,029$). Ek olarak testis boyutunun 15 ml ve üzerinde olması normal kabul edilerek yapılan gruplamada, testis boyutu normal olan ve olmayan gruplar arasında FSH ve LH medyanları açısından anlamlı fark olduğu saptandı ($p<0.05$). Bu durum, sperm içeren seminifer tübüllerinin varlığını her zaman yansıtmasa da, FSH'nın total testiküler fonksiyonun bir göstergesi olmasıyla açıklanabilir [115].

Çalışmaya dahil edilen hastaların muayenesinde 5 hastada grade III varikosel saptadık, bu hastalara subinguinal mikroskopik varikoselektomi yapıldı. Varikoselektomiden 6 ay sonra hastaların semen analizinde tekrar azospermi saptanması üzerine hastalara mTESE yapıldı. Bu 5 hastanın tamamında mTESE sonucu sperm bulundu. Varikoselektominin azospermik hastada TESE başarısını % 10 kadar artırdığı önceki çalışmalarda gösterilmiş olmakla birlikte, mikro TESE başarısını etkilemediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [3, 131, 132]. Bu konuda genel görüş ise varikoselektomi yapma yönündedir. Bizim çalışmamızdaki varikosel hastalarının sayısının az olması çalışmamızın kısıtlılıklarındadır.

Tek başına histopatolojik tanı, sperm elde etme başarısını öngören göstergelerden en güçlüsüdür [133-135]. Preoperatif olarak yapılan biyopside sperm bulunması durumunda sperm elde etme yönteminin başarısı %90'lardadır. Özellikle de biyopside matür spermatozoa varlığı önemli bir pozitif prediktif belirteçtir [2, 137, 138]. Benzer şekilde, sperm elde edilmesi amacıyla önceden geçirilmiş cerrahi veya cerrahiler sırasında raporlanmış olan histopatolojik tanı, daha sonra uygulanması planlanan sperm elde etme yönteminin başarısını öngörmedeki en önemli faktördür (özellikle de raporlanmış olan histopatolojik tanı hipospermatogenez ise başarı şansı artmaktadır) [2, 139]. SCO sendromu olan hastalarda sperm bulunma oranı hipospermatogenez ve matürasyon arresti olan hastalara göre belirgin derecede düşüktür [2, 136]. Okado ve ark. 74 hastada yaptıkları çalışmada histopatolojisi hipospermatogenez, matürasyon arresti ve SCO sendromu olan hastalarda mTESE'de sperm elde etme başarı oranlarının sırasıyla %100, %75 ve %33,9 olduğunu tespit etmişlerdir [11]. Benzer şekilde Kalsi ve ark. 100 hastada yaptıkları çalışmada mTESE ile sperm elde etme başarı oranının hipospermatogenez, matürasyon arresti ve SCO sendromu hastalarında sırasıyla %75,8, %26,6 ve %42,85 olarak saptamışlardır [151]. Bir başka çalışmada ise Abdelraheem ve ark. 219 hastada mTESE'de sperm elde etme başarı oranlarını hipospermatogenez, matürasyon arresti ve SCO sendromu hastalarında sırasıyla %94, %56 ve %24 olarak saptamışlardır [2]. Biz de çalışmamızda hipospermatogenez, SCO sendromu ve matürasyon arresti grupları arasında mTESE sonucu sperm bulunma durumları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunduğunu saptadık ($p<0,001$). Yapılan ikili karşılaştırmalar, bu farkın hipospermatogenez-SCO sendromu ve hipospermatogenez-matürasyon arresti grupları arasındaki farktan kaynaklandığını ortaya çıkarmıştır ($p<0,001$). Çalışmamızda mTESE ile sperm elde etme başarı oranının en yüksek hipospermatogenez grubunda (%88,5) olduğunu saptadık. SCO sendromu ve matürasyon arresti gruplarında ise başarı oranlarının sırasıyla %37,5 ve %30 olduğunu tespit ettik. KS hastalarında ise histopatolojide seminifer tübüllerde sklerotik değişikliklerin bulunmaması en istenen durum olup SCO sendromu varlığında sperm elde etme oranı %70'lerde raporlanmış olmakla birlikte [3]

çalışmamızdaki 9 KS hastasının 8'inde patolojide SCO sendromu tespit edilip bunların da yalnızca 2'sinde sperm elde edilmiştir.

Ishikawa ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, 150 hasta, mTESE yapılma sırasına göre, sperm elde etme başarı oranları dışındaki değişkenleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmayan üç gruba bölünmüştür. İlk 50 vakada %32 olan sperm elde etme başarı oranı, sonraki yapılan 50 vakada %44, son 50 vakada ise %48 olarak tespit edilmiştir. Bu durum, vaka sayısının artmasıyla, hem cerrahın hem de embriyoloğun becerisindeki artış ile açıklanmıştır [152]. Çalışmamızdaki 102 hastayı, mTESE yapılma tarihlerine göre iki gruba böldüğümüzde, değişkenler bakımından bu iki grup arasında serum T düzeyleri dışındaki değişkenlerde istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını saptadık. Bununla birlikte, bu iki grup arasında mTESE ile sperm elde etme oranları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını tespit ettik.

6. SONUÇ

mTESE genellikle bilateral yapılmakta ve bir testiste sperm elde edilemez ise, karşı testise geçilmekte ve aynı işlemler bu testiste de tekrarlanmaktadır. Biz ise çalışmamızda mTESE'yi boyutu daha büyük ve kıvamı daha iyi olan testise unilateral olarak uyguladık ve başarı oranımızı % 62,7 olarak tespit ettik.

Çalışmamızda yaş, infertilite süreleri ve serum T düzeyinin mTESE ile sperm elde etme başarısını etkilemediğini; serum FSH düzeyi, testis volümü ve histopatolojik tanının ise sperm elde edilen ve edilemeyen gruplar arasında anlamlı farlılık gösterdiğini tespit ettik.

Çalışmamızda; KS, AZF mikrodelesyonu, geçirilmiş orşiopeksi hikayesi olan ve varikoselektomi sonrası mTESE yapılan hasta sayılarımızın yeterli olmaması nedeniyle mTESE ile sperm elde etme başarısı açısından istatistiksel analizleri yapılamamıştır.

Çalışmamızdaki 102 hastayı; cerrahın öğrenme eğrisini değerlendirmek amacıyla mTESE yapılma tarihlerine göre iki gruba böldüğümüzde, ortalama serum T düzeyleri dışındaki değişkenleri arasında istatistiksel olarak fark saptanmamakla birlikte, bu iki grup arasında mTESE ile sperm elde etme oranları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığını gördük.

Günümüzde mTESE yöntemiyle sperm elde etme başarısını öngörmede tek başına kullanılabilecek bir parametre veya değişken henüz bulunmamaktadır. Bununla birlikte, klinikte birden fazla değişkenin kombinasyonu kullanılarak preoperatif bir değerlendirme yapılması, hem mTESE yöntemiyle sperm elde etme başarısını öngörmede cerrah açısından yönlendirici olmaktadır hem de infertil çiftlerin beklentilerini karşılayabilmek açısından yol göstericidir.

KAYNAKLAR

1. Goktolga, U., et al., *The First Report from Bosnia and Herzegovina on Micro-tese Results in Azoospermic Patients.* Med Arch, 2015. 69 (3): p. 196-9.
2. Abdel Raheem, A., et al., *Testicular histopathology as a predictor of a positive sperm retrieval in men with non-obstructive azoospermia.* BJU Int, 2013. 111 (3): p. 492-9.
3. Bernie, A.M., R. Ramasamy, and P.N. Schlegel, *Predictive factors of successful microdissection testicular sperm extraction.* Basic Clin Androl, 2013. 23: p. 5.
4. Raman, J.D. and P.N. Schlegel, *Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection is successful for the treatment of nonobstructive azoospermia associated with cryptorchidism.* J Urol, 2003. 170 (4 Pt 1): p. 1287-90.
5. Jarow, J.P., M.A. Espeland, and L.I. Lipshultz, *Evaluation of the azoospermic patient.* J Urol, 1989. 142 (1): p. 62-5.
6. Mazhar Ortaç, M.D., Emre Salabaş, Mohammed Khodr, Ateş Kadıoğlu *Üremeye Yardımcı Tedavi İçin Sperm Elde Etme Yöntemleri*, in *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, S.Ç. Ramazan Aşçı, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, Muammer Kendirci, Oğuz Ekmekçioğlu, Ateş Kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: İstanbul Tıb Kitabevi. p. 841-853.
7. Esteves, S.C., R. Miyaoka, and A. Agarwal, *An update on the clinical assessment of the infertile male. [corrected].* Clinics (Sao Paulo), 2011. 66 (4): p. 691-700.
8. Schlegel, P.N., *Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision.* Hum Reprod, 1999. 14 (1): p. 131-5.
9. Ramasamy, R., N. Yagan, and P.N. Schlegel, *Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction.* Urology, 2005. 65 (6): p. 1190-4.

10. Turunc, T., et al., *Conventional testicular sperm extraction combined with the microdissection technique in nonobstructive azoospermic patients: a prospective comparative study.* Fertil Steril, 2010. 94 (6): p. 2157-60.
11. Okada, H., et al., *Conventional versus microdissection testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia.* J Urol, 2002. 168 (3): p. 1063-7.
12. Schlegel, P.N., *Nonobstructive azoospermia: a revolutionary surgical approach and results.* Semin Reprod Med, 2009. 27 (2): p. 165-70.
13. Ishikawa, T., *Surgical recovery of sperm in non-obstructive azoospermia.* Asian J Androl, 2012. 14 (1): p. 109-15.
14. Tsujimura, A., et al., *Conventional multiple or microdissection testicular sperm extraction: a comparative study.* Hum Reprod, 2002. 17 (11): p. 2924-9.
15. Yalçın kırıcı, s.y., *Erkek Üreme Sistemi Anatomisi,* in *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, s.ç. Ramazan aşçı, fikret erdemir, irfan orhan, önder yaman, mustafa faruk usta, muammer kendirci, oğuz ekmekçioğlu, ateş kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: İstanbul Tıp Kitabevi. p. 21-28.
16. Benjamin I.Chung, M., Graham Sommer, MD, James D.Brooks, MD, *Campbell-Walsh Üroloji*, in *Alt Üriner Sistem ve Erkek Genital Sistemin Anatomisi*, M. Louis R. Kavoussi, MBA, Andrew C.Novick, MD, Alan W. PAartin, MD, PhD, Craig A. Peters, MD, FACS, FAAP, Editor. 2014: Güneş Tıp Kitabevleri. p. 33-70.
17. Andersson, A.M., et al., *Variation in levels of serum inhibin B, testosterone, estradiol, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and sex hormone-binding globulin in monthly samples from healthy men during a 17-month period: possible effects of seasons.* J Clin Endocrinol Metab, 2003. 88 (2): p. 932-7.
18. Robin, N.H., et al., *Classical Noonan syndrome is not associated with deletions of 22q11.* Am J Med Genet, 1995. 56 (1): p. 94-6.
19. Lopez, F.J., et al., *Modulating mechanisms of neuroendocrine cell activity: the LHRH pulse generator.* Cell Mol Neurobiol, 1998. 18 (1): p. 125-46.

20. Buchter, D., et al., *Pulsatile GnRH or human chorionic gonadotropin/human menopausal gonadotropin as effective treatment for men with hypogonadotropic hypogonadism: a review of 42 cases.* Eur J Endocrinol, 1998. 139 (3): p. 298-303.
21. Roseweir, A.K. and R.P. Millar, *The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion.* Hum Reprod Update, 2009. 15 (2): p. 203-12.
22. Smith, J.T., et al., *Variation in kisspeptin and RFamide-related peptide (RFRP) expression and terminal connections to gonadotropin-releasing hormone neurons in the brain: a novel medium for seasonal breeding in the sheep.* Endocrinology, 2008. 149 (11): p. 5770-82.
23. McGrady, A.V., *Effects of psychological stress on male reproduction: a review.* Arch Androl, 1984. 13 (1): p. 1-7.
24. İsa Özbey, T.Z., *Erkekte Hipotalamus-Hipofiz-Testis Aksı*, in *Erkekte Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, S.Ç. Ramazan Aşçı, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, Muammer Kendirci, Oğuz Ekmekçioğlu, Ateş Kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: İstanbul Tıp Kitabevi. p. 37-54.
25. Tapanainen, J.S., et al., *Men homozygous for an inactivating mutation of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor gene present variable suppression of spermatogenesis and fertility.* Nat Genet, 1997. 15 (2): p. 205-6.
26. Moyle, W.R., et al., *Model of human chorionic gonadotropin and lutropin receptor interaction that explains signal transduction of the glycoprotein hormones.* J Biol Chem, 1995. 270 (34): p. 20020-31.
27. Jockenhovel, F., et al., *Bio and immuno-activity of FSH in serum after intramuscular injection of highly purified urinary human FSH in normal men.* Clin Endocrinol (Oxf), 1990. 33 (5): p. 573-84.
28. Hsueh, A.J., et al., *Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine action in the modulation of luteinizing hormone-stimulated androgen biosynthesis.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. 84 (14): p. 5082-6.
29. Roberts, V., et al., *Production and regulation of inhibin subunits in pituitary gonadotropes.* Endocrinology, 1989. 124 (1): p. 552-4.

30. Roberts, V.J., et al., *Inhibin/activin subunits are costored with FSH and LH in secretory granules of the rat anterior pituitary gland.* Neuroendocrinology, 1992. 56 (2): p. 214-24.
31. Corrigan, A.Z., et al., *Evidence for an autocrine role of activin B within rat anterior pituitary cultures.* Endocrinology, 1991. 128 (3): p. 1682-4.
32. Sekido, R. and R. Lovell-Badge, *Sex determination and SRY: down to a wink and a nudge?* Trends Genet, 2009. 25 (1): p. 19-29.
33. Hutchison, G.R., et al., *Sertoli cell development and function in an animal model of testicular dysgenesis syndrome.* Biol Reprod, 2008. 78 (2): p. 352-60.
34. Paul J. Turek, M., FACS, FRSM, *Erkek Reproduktif Fizyolojisi* in *Campbell-Walsh Üroloji*, M. Louis R. Kavoussi, MBA, Andrew C.Novick, MD, Alan W. PAartin, MD, PhD, Craig A. Peters, MD, FACS, FAAP, Editor. 2014: Güneş Tıp Kitabevleri. p. 591-600.
35. Main, K.M., I.M. Schmidt, and N.E. Skakkebaek, *A possible role for reproductive hormones in newborn boys: progressive hypogonadism without the postnatal testosterone peak.* J Clin Endocrinol Metab, 2000. 85 (12): p. 4905-7.
36. Solakoğlu, S., *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, in *Ürogenital Sistemin Gelişimi*, S.Ç. Ramazan aşçı, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, Muammer Kendirci, Oğuz Ekmekçioğlu, Ateş Kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: İstanbul Tıp Kitabevi. p. 3-10.
37. Schrader, M., et al., *Quantification of telomerase activity, porphobilinogen deaminase and human telomerase reverse transcriptase mRNA in testicular tissue - new parameters for a molecular diagnostic classification of spermatogenesis disorders.* Int J Androl, 2002. 25 (1): p. 34-44.
38. Chen, H., et al., *Age-related decreased Leydig cell testosterone production in the brown Norway rat.* J Androl, 1994. 15 (6): p. 551-7.
39. Ichihara, I., H. Kawamura, and L.J. Pelliniemi, *Ultrastructure and morphometry of testicular Leydig cells and the interstitial components correlated with testosterone in aging rats.* Cell Tissue Res, 1993. 271 (2): p. 241-55.

40. Rich, M.A. and M.A. Keating, *Leydig cell tumors and tumors associated with congenital adrenal hyperplasia.* Urol Clin North Am, 2000. 27 (3): p. 519-28, x.
41. Kaler, L.W. and W.B. Neaves, *Attrition of the human Leydig cell population with advancing age.* Anat Rec, 1978. 192 (4): p. 513-8.
42. Erkkila, K., et al., *Lactate inhibits germ cell apoptosis in the human testis.* Mol Hum Reprod, 2002. 8 (2): p. 109-17.
43. Foucault, P., et al., *Human Sertoli cells in vitro. Lactate, estradiol-17 beta and transferrin production.* J Androl, 1992. 13 (5): p. 361-7.
44. Luisi, S., et al., *Inhibins in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis, conception, implantation and early pregnancy.* Hum Reprod Update, 2005. 11 (2): p. 123-35.
45. Eguchi, J., et al., *Fas-Fas ligand system as a possible mediator of spermatogenic cell apoptosis in human maturation-arrested testes.* Hum Cell, 2002. 15 (1): p. 61-8.
46. Kim, S.K., et al., *Involvement of the Fas-Fas ligand system and active caspase-3 in abnormal apoptosis in human testes with maturation arrest and Sertoli cell-only syndrome.* Fertil Steril, 2007. 87 (3): p. 547-53.
47. Rudak, E., P.A. Jacobs, and R. Yanagimachi, *Direct analysis of the chromosome constitution of human spermatozoa.* Nature, 1978. 274 (5674): p. 911-3.
48. Depa-Martynow, M., et al., *Association between fertilin beta, protamines 1 and 2 and spermatid-specific linker histone H1-like protein mRNA levels, fertilization ability of human spermatozoa, and quality of preimplantation embryos.* Folia Histochem Cytobiol, 2007. 45 Suppl 1: p. S79-85.
49. Shabanowitz, R.B., *Mouse antibodies to human zona pellucida: evidence that human ZP3 is strongly immunogenic and contains two distinct isomer chains.* Biol Reprod, 1990. 43 (2): p. 260-70.
50. Amann, R.P. and S.S. Howards, *Daily spermatozoal production and epididymal spermatozoal reserves of the human male.* J Urol, 1980. 124 (2): p. 211-5.

51. Aşçı, R., *Subfertil Erkeğin Değerlendirilmesi*, in *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, S.Ç. Ramazan Aşçı, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, Muammer Kendirci, Oğuz Ekmekçioğlu, Ateş Kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: İstanbul Tıp Kitabevi. p. 199-214.
52. Jungwirth, A., et al., *European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update.* Eur Urol, 2012. 62 (2): p. 324-32.
53. Matzuk, M.M. and D.J. Lamb, *Genetic dissection of mammalian fertility pathways.* Nat Cell Biol, 2002. 4 Suppl: p. s41-9.
54. Edmund Sabanegh, A.A., *Erkek İnfertilitesi*, in *Campbell-Walsh Üroloji*. 2014: Güneş Tıp Kitabevleri. p. 616-647.
55. Feng, C., et al., *Assisted reproductive technology may increase clinical mutation detection in male offspring.* Fertil Steril, 2008. 90 (1): p. 92-6.
56. de Souza, G.L. and J. Hallak, *Anabolic steroids and male infertility: a comprehensive review.* BJU Int, 2011. 108 (11): p. 1860-5.
57. Dohle, G.R., M. Smit, and R.F. Weber, *Androgens and male fertility.* World J Urol, 2003. 21 (5): p. 341-5.
58. Giuliano, F., *Impact of medical treatments for benign prostatic hyperplasia on sexual function.* BJU Int, 2006. 97 Suppl 2: p. 34-8; discussion 44-5.
59. Turunc, T., et al., *Conventional testicular sperm extraction combined with the microdissection technique in nonobstructive azoospermic patients: a prospective comparative study.* Fertil Steril, 2010. 94 (6): p. 2157-60.
60. Asci, R., et al., *Voiding and sexual dysfunctions after pelvic fracture urethral injuries treated with either initial cystostomy and delayed urethroplasty or immediate primary urethral realignment.* Scand J Urol Nephrol, 1999. 33 (4): p. 228-33.
61. Ceccarelli, C., D. Canale, and P. Vitti, *Radioactive iodine (131I) effects on male fertility.* Curr Opin Urol, 2008. 18 (6): p. 598-601.
62. Krassas, G.E., K. Poppe, and D. Glinoer, *Thyroid function and human reproductive health.* Endocr Rev, 2010. 31 (5): p. 702-55.
63. Buch, J.P. and S.K. Havlovec, *Variation in sperm penetration assay related to viral illness.* Fertil Steril, 1991. 55 (4): p. 844-6.

64. Sheynkin, Y.R., et al., *Microsurgical repair of iatrogenic injury to the vas deferens.* J Urol, 1998. 159 (1): p. 139-41.
65. Casella, R., et al., *Mumps orchitis: report of a mini-epidemic.* J Urol, 1997. 158 (6): p. 2158-61.
66. Lee, P.A., et al., *Paternity after unilateral cryptorchidism: a controlled study.* Pediatrics, 1996. 98 (4 Pt 1): p. 676-9.
67. Cendron, M., et al., *Cryptorchidism, orchiopexy and infertility: a critical long-term retrospective analysis.* J Urol, 1989. 142 (2 Pt 2): p. 559-62; discussion 572.
68. Agarwal, A., et al., *Efficacy of varicocelectomy in improving semen parameters: new meta-analytical approach.* Urology, 2007. 70 (3): p. 532-8.
69. Kolettis, P.N. and E.S. Sabanegh, *Significant medical pathology discovered during a male infertility evaluation.* J Urol, 2001. 166 (1): p. 178-80.
70. Pelfrey, R.J., J.W. Overstreet, and E.L. Lewis, *Abnormalities of sperm morphology in cases of persistent infertility after vasectomy reversal.* Fertil Steril, 1982. 38 (1): p. 112-4.
71. De Jonge, C., et al., *Influence of the abstinence period on human sperm quality.* Fertil Steril, 2004. 82 (1): p. 57-65.
72. Correa-Perez, J.R., *Occurrence of nonpersistent hematospermia after a prolonged period of daily ejaculatory intensity longer than 3 weeks.* J Assist Reprod Genet, 2004. 21 (9): p. 341-2.
73. Tyler, J.P., N.G. Crockett, and G.L. Driscoll, *Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation II. Spermatozoal vitality and storage.* Clin Reprod Fertil, 1982. 1 (4): p. 287-93.
74. Aktan, G., *Semen Analizi*, in *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, S.Ç. Ramazan Aşçı, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, Muammer Kendirci, Oğuz Ekmekçioğlu, Ateş Kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: Güneş Tıb Kitabevi. p. 321-345.
75. Liu, P.Y. and D.J. Handelsman, *The present and future state of hormonal treatment for male infertility.* Hum Reprod Update, 2003. 9 (1): p. 9-23.

76. Klemcke, H.G., A. Bartke, and K.T. Borer, *Regulation of testicular prolactin and luteinizing hormone receptors in golden hamsters.* Endocrinology, 1984. 114 (2): p. 594-603.
77. Sokol, R.Z., *Endocrinology of male infertility: evaluation and treatment.* Semin Reprod Med, 2009. 27 (2): p. 149-58.
78. Hughes, I.A., *Minireview: sex differentiation.* Endocrinology, 2001. 142 (8): p. 3281-7.
79. Burrows, P.J., C.G. Schrepferman, and L.I. Lipshultz, *Comprehensive office evaluation in the new millennium.* Urol Clin North Am, 2002. 29 (4): p. 873-94.
80. Lewis, A.S., C.H. Courtney, and A.B. Atkinson, *All patients with 'idiopathic' hypopituitarism should be screened for hemochromatosis.* Pituitary, 2009. 12 (3): p. 273-5.
81. Şamlı, M., *Erkek İnfertilitesinde Genetik değerlendirme*, in *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*, S.Ç. Ramazan Aşçı, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, Muammer Kendirci, Oğuz Ekmekçioğlu, Ateş Kadıoğlu, Editor. 2013, Türk Androloji Derneği: İstanbul Tıp Kitabevi. p. 241-276.
82. Bojesen, A., et al., *Morbidity in Klinefelter syndrome: a Danish register study based on hospital discharge diagnoses.* J Clin Endocrinol Metab, 2006. 91 (4): p. 1254-60.
83. Bastida, M.G., et al., *Establishment of testicular endocrine function impairment during childhood and puberty in boys with Klinefelter syndrome.* Clin Endocrinol (Oxf), 2007. 67 (6): p. 863-70.
84. Zhang, F., et al., *Partial deletions are associated with an increased risk of complete deletion in AZFc: a new insight into the role of partial AZFc deletions in male infertility.* J Med Genet, 2007. 44 (7): p. 437-44.
85. Stuppia, L., et al., *A quarter of men with idiopathic oligo-azoospermia display chromosomal abnormalities and microdeletions of different types in interval 6 of Yq11.* Hum Genet, 1998. 102 (5): p. 566-70.

86. Mau Kai, C., et al., *Sons conceived by assisted reproduction techniques inherit deletions in the azoospermia factor (AZF) region of the Y chromosome and the DAZ gene copy number.* Hum Reprod, 2008. 23 (7): p. 1669-78.
87. Silber, S.J., et al., *Y chromosome deletions in azoospermic and severely oligozoospermic men undergoing intracytoplasmic sperm injection after testicular sperm extraction.* Hum Reprod, 1998. 13 (12): p. 3332-7.
88. Mulhall, J.P., et al., *Azoospermic men with deletion of the DAZ gene cluster are capable of completing spermatogenesis: fertilization, normal embryonic development and pregnancy occur when retrieved testicular spermatozoa are used for intracytoplasmic sperm injection.* Hum Reprod, 1997. 12 (3): p. 503-8.
89. Kent-First, M.G., et al., *Infertility in intracytoplasmic-sperm-injection-derived sons.* Lancet, 1996. 348 (9023): p. 332.
90. Brandell, R.A., et al., *AZFb deletions predict the absence of spermatozoa with testicular sperm extraction: preliminary report of a prognostic genetic test.* Hum Reprod, 1998. 13 (1o): p. 2812-5.
91. Kamischke, A., et al., *Transmission of a Y chromosomal deletion involving the deleted in azoospermia (DAZ) and chromodomain (CDY1) genes from father to son through intracytoplasmic sperm injection: case report.* Hum Reprod, 1999. 14 (9): p. 2320-2.
92. Hucklenbroich, K., et al., *Partial deletions in the AZFc region of the Y chromosome occur in men with impaired as well as normal spermatogenesis.* Hum Reprod, 2005. 20 (1): p. 191-7.
93. Repping, S., et al., *Polymorphism for a 1.6-Mb deletion of the human Y chromosome persists through balance between recurrent mutation and haploid selection.* Nat Genet, 2003. 35 (3): p. 247-51.
94. Sharlip, I.D., et al., *Best practice policies for male infertility.* Fertil Steril, 2002. 77 (5): p. 873-82.
95. Hopps, C.V., et al., *Detection of sperm in men with Y chromosome microdeletions of the AZFa, AZFb and AZFc regions.* Hum Reprod, 2003. 18 (8): p. 1660-5.

96. Simoni, M., et al., *Clinical consequences of microdeletions of the Y chromosome: the extended Munster experience.* Reprod Biomed Online, 2008. 16 (2): p. 289-303.
97. Cocuzza, M., C. Alvarenga, and R. Pagani, *The epidemiology and etiology of azoospermia.* Clinics (Sao Paulo), 2013. 68 Suppl 1: p. 15-26.
98. Schlegel, P.N., *Causes of azoospermia and their management.* Reprod Fertil Dev, 2004. 16 (5): p. 561-72.
99. Schlegel, P.N. and P.S. Li, *Microdissection TESE: sperm retrieval in non-obstructive azoospermia.* Hum Reprod Update, 1998. 4 (4): p. 439.
100. Devroey, P., et al., *Pregnancies after testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection in non-obstructive azoospermia.* Hum Reprod, 1995. 10 (6): p. 1457-60.
101. Craft, I., V. Bennett, and N. Nicholson, *Fertilising ability of testicular spermatozoa.* Lancet, 1993. 342 (8875): p. 864.
102. Tsirigotis, M., et al., *Experience with subzonal insemination (SUZI) and intracytoplasmic sperm injection (ICSI) on unfertilized aged human oocytes.* J Assist Reprod Genet, 1994. 11 (8): p. 389-94.
103. Shrivastav, P., et al., *Percutaneous epididymal sperm aspiration for obstructive azoospermia.* Hum Reprod, 1994. 9 (11): p. 2058-61.
104. Belker, A.M., et al., *Percutaneous testicular sperm aspiration: a convenient and effective office procedure to retrieve sperm for in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection.* J Urol, 1998. 160 (6 Pt 1): p. 2058-62.
105. Bernie, A.M., et al., *Comparison of microdissection testicular sperm extraction, conventional testicular sperm extraction, and testicular sperm aspiration for nonobstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis.* Fertil Steril, 2015. 104 (5): p. 1099-1103.e3.
106. Ostad, M., et al., *Testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia: results of a multibiopsy approach with optimized tissue dispersion.* Urology, 1998. 52 (4): p. 692-6.
107. Temple-Smith, P.D., et al., *Human pregnancy by in vitro fertilization (IVF) using sperm aspirated from the epididymis.* J In Vitro Fert Embryo Transf, 1985. 2 (3): p. 119-22.

108. Esteves, S.C., R. Miyaoka, and A. Agarwal, *Sperm retrieval techniques for assisted reproduction.* Int Braz J Urol, 2011. 37 (5): p. 570-83.
109. Levin, H.S., *Testicular biopsy in the study of male infertility: its current usefulness, histologic techniques, and prospects for the future.* Hum Pathol, 1979. 10 (5): p. 569-84.
110. Hauser, R., et al., *Multiple testicular sampling in non-obstructive azoospermia--is it necessary?* Hum Reprod, 1998. 13 (11): p. 3081-5.
111. Chan, P.T. and P.N. Schlegel, *Nonobstructive azoospermia.* Curr Opin Urol, 2000. 10 (6): p. 617-24.
112. Tsujimura, A., et al., *Salvage microdissection testicular sperm extraction after failed conventional testicular sperm extraction in patients with nonobstructive azoospermia.* J Urol, 2006. 175 (4): p. 1446-9; discussion 1449.
113. George, J.W., E.A. Dille, and L.L. Heckert, *Current concepts of follicle-stimulating hormone receptor gene regulation.* Biol Reprod, 2011. 84 (1): p. 7-17.
114. Zitzmann, M., et al., *Elevated follicle-stimulating hormone levels and the chances for azoospermic men to become fathers after retrieval of elongated spermatids from cryopreserved testicular tissue.* Fertil Steril, 2006. 86 (2): p. 339-47.
115. Ramasamy, R., et al., *High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction.* Fertil Steril, 2009. 92 (2): p. 590-3.
116. Aydos, K., et al., *The effect of pure FSH administration in non-obstructive azoospermic men on testicular sperm retrieval.* Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2003. 108 (1): p. 54-8.
117. Tsujimura, A., *Microdissection testicular sperm extraction: prediction, outcome, and complications.* Int J Urol, 2007. 14 (10): p. 883-9.
118. Huang, X., et al., *Combination of serum inhibin B and follicle-stimulating hormone levels can not improve the diagnostic accuracy on testicular sperm extraction outcomes in Chinese non-obstructive azoospermic men.* Chin Med J (Engl), 2012. 125 (16): p. 2885-9.

119. Vernaeve, V., et al., *Serum inhibin B cannot predict testicular sperm retrieval in patients with non-obstructive azoospermia.* Hum Reprod, 2002. 17 (4): p. 971-6.
120. Meachem, S.J., E. Nieschlag, and M. Simoni, *Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance.* Eur J Endocrinol, 2001. 145 (5): p. 561-71.
121. Tunc, L., et al., *Can serum Inhibin B and FSH levels, testicular histology and volume predict the outcome of testicular sperm extraction in patients with non-obstructive azoospermia?* Int Urol Nephrol, 2006. 38 (3-4): p. 629-35.
122. Tsujimura, A., et al., *Prediction of successful outcome of microdissection testicular sperm extraction in men with idiopathic nonobstructive azoospermia.* J Urol, 2004. 172 (5 Pt 1): p. 1944-7.
123. Mitchell, V., et al., *Correlation between testicular sperm extraction outcomes and clinical, endocrine and testicular histology parameters in 120 azoospermic men with normal serum FSH levels.* Int J Androl, 2011. 34 (4): p. 299-305.
124. Ramasamy, R., et al., *A comparison of models for predicting sperm retrieval before microdissection testicular sperm extraction in men with nonobstructive azoospermia.* J Urol, 2013. 189 (2): p. 638-42.
125. Bryson, C.F., et al., *Severe testicular atrophy does not affect the success of microdissection testicular sperm extraction.* J Urol, 2014. 191 (1): p. 175-8.
126. Kamp, C., et al., *High deletion frequency of the complete AZFa sequence in men with Sertoli-cell-only syndrome.* Mol Hum Reprod, 2001. 7 (10): p. 987-94.
127. Stahl, P.J., et al., *A decade of experience emphasizes that testing for Y microdeletions is essential in American men with azoospermia and severe oligozoospermia.* Fertil Steril, 2010. 94 (5): p. 1753-6.
128. Ramasamy, R., et al., *Successful fertility treatment for Klinefelter's syndrome.* J Urol, 2009. 182 (3): p. 1108-13.
129. Ramasamy, R., et al., *Age does not adversely affect sperm retrieval in men undergoing microdissection testicular sperm extraction.* Fertil Steril, 2014. 101 (3): p. 653-5.

130. Haimov-Kochman, R., et al., *Reproductive outcome of men with azoospermia due to cryptorchidism using assisted techniques.* Int J Androl, 2010. 33 (1): p. e139-43.
131. Matthews, G.J., E.D. Matthews, and M. Goldstein, *Induction of spermatogenesis and achievement of pregnancy after microsurgical varicocelectomy in men with azoospermia and severe oligoasthenospermia.* Fertil Steril, 1998. 70 (1): p. 71-5.
132. Schlegel, P.N. and J. Kaufmann, *Role of varicocelectomy in men with nonobstructive azoospermia.* Fertil Steril, 2004. 81 (6): p. 1585-8.
133. Jezek, D., U.A. Knuth, and W. Schulze, *Successful testicular sperm extraction (TESE) in spite of high serum follicle stimulating hormone and azoospermia: correlation between testicular morphology, TESE results, semen analysis and serum hormone values in 103 infertile men.* Hum Reprod, 1998. 13 (5): p. 1230-4.
134. Sousa, M., et al., *Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen-thawed sperm and spermatids.* Hum Reprod, 2002. 17 (7): p. 1800-10.
135. Su, L.M., et al., *Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia: testicular histology can predict success of sperm retrieval.* J Urol, 1999. 161 (1): p. 112-6.
136. Seo, J.T. and W.J. Ko, *Predictive factors of successful testicular sperm recovery in non-obstructive azoospermia patients.* Int J Androl, 2001. 24 (5): p. 306-10.
137. Tournaye, H., et al., *Are there any predictive factors for successful testicular sperm recovery in azoospermic patients?* Hum Reprod, 1997. 12 (1): p. 80-6.
138. Schoor, R.A., et al., *The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility.* J Urol, 2002. 167 (1): p. 197-200.
139. Kalsi, J.S., et al., *Salvage micro-dissection testicular sperm extraction; outcome in men with non-obstructive azoospermia with previous failed sperm retrievals.* BJU Int, 2015. 116 (3): p. 460-5.

140. Amer, M., et al., *Testicular sperm extraction: impact of testicular histology on outcome, number of biopsies to be performed and optimal time for repetition.* Hum Reprod, 1999. 14 (12): p. 3030-4.
141. Schlegel, P.N. and L.M. Su, *Physiological consequences of testicular sperm extraction.* Hum Reprod, 1997. 12 (8): p. 1688-92.
142. Amer, M., et al., *Prospective comparative study between microsurgical and conventional testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia: follow-up by serial ultrasound examinations.* Hum Reprod, 2000. 15 (3): p. 653-6.
143. Reifsnyder, J.E., et al., *Role of optimizing testosterone before microdissection testicular sperm extraction in men with nonobstructive azoospermia.* J Urol, 2012. 188 (2): p. 532-6.
144. Shinjo, E., K. Shiraishi, and H. Matsuyama, *The effect of human chorionic gonadotropin-based hormonal therapy on intratesticular testosterone levels and spermatogonial DNA synthesis in men with non-obstructive azoospermia.* Andrology, 2013. 1 (6): p. 929-35.
145. Kato, Y., K. Shiraishi, and H. Matsuyama, *Expression of testicular androgen receptor in non-obstructive azoospermia and its change after hormonal therapy.* Andrology, 2014. 2 (5): p. 734-40.
146. Hussein, A., et al., *Optimization of spermatogenesis-regulating hormones in patients with non-obstructive azoospermia and its impact on sperm retrieval: a multicentre study.* BJU Int, 2013. 111 (3 Pt B): p. E110-4.
147. Shiraishi, K., et al., *Human chorionic gonadotrophin treatment prior to microdissection testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia.* Hum Reprod, 2012. 27 (2): p. 331-9.
148. McLachlan, R.I., et al., *Identification of specific sites of hormonal regulation in spermatogenesis in rats, monkeys, and man.* Recent Prog Horm Res, 2002. 57: p. 149-79.
149. Shiraishi, K. and H. Matsuyama, *Local expression of epidermal growth factor-like growth factors in human testis and its role in spermatogenesis.* J Androl, 2012. 33 (1): p. 66-73.

150. Fullerton, G., M. Hamilton, and A. Maheshwari, *Should non-mosaic Klinefelter syndrome men be labelled as infertile in 2009?* Hum Reprod, 2010. 25 (3): p. 588-97.
151. Kalsi, J., et al., *In the era of micro-dissection sperm retrieval (m-TESE) is an isolated testicular biopsy necessary in the management of men with non-obstructive azoospermia?* BJU Int, 2012. 109 (3): p. 418-24.
152. Ishikawa, T., et al., *Learning curves of microdissection testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia.* Fertil Steril, 2010. 94 (3): p. 1008-11.