

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

ERKEK İNFERTİLİTESİNDE SEMEN PARAMETRELERİ İLE  
SPERM KROMOZOM ANÖPLOİDİ SIKLIĞI İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Dr.İlhun ARAS

Üroloji Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2009



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

ERKEK İNFERTİLİTESİNDE SEMEN PARAMETRELERİ İLE  
SPERM KROMOZOM ANÖPLOİDİ SIKLIĞI İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Dr.İlhun ARAS

Üroloji Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI  
Doç.Dr.Cavit CAN

ESKİŞEHİR  
2009

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA,

**Dr. İlhun ARAS'** a ait "*Erkek İnfertilitesinde Semen Parametreleri İle Sperm Kromozom Anöploidi Sıklığı İlişkisinin Araştırılması*" adlı çalışma jürimiz tarafından Üroloji Anabilim Dalı' nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih : \_\_.\_\_.2009

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Metin KALE Üroloji Anabilim Dalı	İmza
Üye:	Doç.Dr.Cavit CAN (Tez Danışmanı) Üroloji Anabilim Dalı	İmza
Üye:	Doç.Dr.Aydın YENİLMEZ Üroloji Anabilim Dalı	İmza

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yönetim Kurulu'nun  
.../.../..... Tarih ve ...../..... Sayılı Kararı ile onaylanmıştır.

Prof.Dr.Zübeyir KILIÇ  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında Yapmış olduğum uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren sayın hocalarım Prof.Dr. Metin KALE'ye, Prof.Dr. Turgut DÖNMEZ'e, danışman hocam Doç.Dr. Cavit CAN'a, Doç.Dr. Aydın YENİLMEZ'e, Anabilim Dalımızda birlikte çalıştığım meslektaşlarım ve çalışma arkadaşlarıma; tezimde olgularımın temininde bana yardım eden Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üreme Sağlığı Ünitesi Çalışanlarına, ayrıca tez olgularımın tüm genetik analizlerini gerçekleştiren Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na yardımları ve destekleri için teşekkür ederim.

Tezimin belirlenmesi döneminde tez danışmanım olan ve yakalandığı hastalık sonucu aramızdan ayrılan sayın hocam Yrd.Doç.Dr. Mehmet TURGUT'u saygı ve rahmetle anıyorum.

## ÖZET

**ARAS, İ. Erkek İnfertilitesinde Semen Parametreleri İle Sperm Kromozom Anöplöidi Sıklığı İlişkisinin Araştırılması. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Ütoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2009.**

Çalışmamızda oligozoospermisi bulunan infertil erkeklerde oligozoospermi derecesi ile sperm kromozom anöplöidisi sıklığı arasındaki ilişkinin araştırılması ve kromozomal sperm nükleus profilinin yardımcı üreme teknikleri öncesi yardımcı bir test olarak kullanılıp kullanılamayacağına belirlenmesi amaçlanmıştır.

Kromozom anomalisi ve Y-kromozomu mikrodelsiyonu bulunmayan, farklı derecelerde oligozoospermisi bulunan 30 olgu (10 hafif, 11 orta şiddette, 9 şiddetli oligozoospermi) ve 10 normozoospermik olguda sperm kromozom anöplöidilerinin (kromozom 13, 18, 21, X ve Y) ortaya konulması amacıyla FISH analizi yapılmıştır.

Orta ve şiddetli oligozoospermik grupta normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında kromozom 13, 18 ve 21 dizomileri için fark bulunmuş ( $p < 0.001$ ), dizomi frekansı normozoospermik gruba göre artmıştır. Orta ve şiddetli oligozoospermik grupta normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında cinsiyet kromozom dizomileri için fark bulunmuş ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.040$ ), dizomi frekansı normozoospermik gruba göre artmıştır. Tüm oligozoospermik grupta normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında diploidi için fark bulunmuş ( $p < 0.001$ ), diploidi frekansı normozoospermik gruba göre artmıştır.

Çalışmamız, özellikle yardımcı üreme tekniklerine en çok yönlendirilen olgu grubu olan oligozoospermik erkeklerde sperm anöplöidi oranının belirlenmesinin, reproduktif uygulamalara geçmeden önce yardımcı bir test olarak önerilmesinin ve sonuca göre hastalara genetik danışmaya yönlendirilmesinin uygun olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** erkek infertilitesi, oligozoospermi, sperm anöplöidi, FISH.

## ABSTRACT

**ARAS, İ. Investigation of the association between semen parameters and sperm chromosome aneuploidy frequency in male infertility. Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Medical Speciality Thesis in Department of Urology, Eskişehir, 2009.**

We aimed to investigate the association between the degree of oligozoospermia and sperm chromosome aneuploidy frequency in male infertility and determine whether chromosomal sperm nucleus profile would be used for a supportive test before additive reproduction techniques.

It is supposed to put forth sperm chromosomal aneuploidies (Chromosome 13, 18, 21, X and Y) in 30 cases, without chromosomal abnormality and Y chromosome microdeletions having several degrees of oligozoospermia (10 mild, 11 moderate, 9 severe oligozoospermia) and 10 normozoospermic cases; via FISH analysis.

It is found that moderate and severe oligospermic group had significant difference for 13, 18 and 21 disomies ( $p < 0.001$ ) comparing to normozoospermic group; disomy frequency had increased comparing to normozoospermic group. It is found that moderate and severe oligozoospermic group had difference for sex chromosome disomies ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p < 0.040$ ) comparing to normozoospermic group; disomy frequency had increased comparing to normozoospermic group. It is found that all oligozoospermic groups have significant difference comparing to normozoospermic group ( $p < 0.001$ ), disomy frequency had increased comparing to normozoospermic group.

Our study has showed that determining sperm aneuploidy proportion in oligozoospermic man whom is being directed for additive reproduction techniques, suggested it is a supportive test before additive reproduction techniques and it is suitable to direct the patients for genetic counseling according to the result.

**Key words:** male infertility, oligozoospermia, sperm aneuploidy, FISH

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLOLAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnfertilite	3
2.2. Genital Embriyoloji	4
2.2.1. Gonadların Gelişimi	4
2.2.2. Erkek Genital Yapılarının Gelişimi	5
2.2.3. Dış Genitalerin Gelişimi	6
2.3. Erkek Üreme Fizyolojisi	7
2.3.1. Hipotalamus	8
2.3.2. Hipofiz	9
2.3.3. Hipotalamik ve Hipofizer Aksın Pubertal Gelişimi	9
2.3.4. Testis	11
2.3.5. Posttestiküler Transport	13
2.4. Spermatogenez	15
2.4.1. Spermatogonial Faz (Spermatositogenez)	16
2.4.2. Spermatosit Fazı (Mayoz)	17
2.4.3. Spermatid Fazı (Spermiogenez)	17
2.4.4. Spermatogenezin Genetik Özellikleri	22
2.4.5. Endokrin Faktörler	22
2.4.6. Diğer Faktörler	23
2.5. İnfertil Erkeğin Değerlendirilmesi	24
2.5.1. Semen Analizi	28



2.5.2. Semen Toplanması	28
2.5.3. Semen Makroskopik Değerlendirilmesi	29
2.5.4. Semen Mikroskopik Değerlendirilmesi	30
2.5.5. Endokrin İnceleme	34
2.5.6. Ejakülasyon Sonrası İdrarda Sperm Aranması	36
2.5.7. Radyolojik Değerlendirme	36
2.5.8. Sperm ve Semene Ait Spesifik Testler	37
2.5.9. Testis Biyopsisi	37
2.5.10. Genetik Araştırma	38
2.6. İnfertilite Tedavisi	39
2.6.1. Erkek İnfertilitesinde Medikal Tedavi	39
2.6.2. Erkek İnfertilitesinde Cerrahi Tedavi	45
2.7. Üremeye Yardımcı Teknikler	46
2.8. Spermde FISH Analizi	48
2.8.1. İnfertil Erkekde Spermde FISH Analizi	49
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	51
3. 1. GEREÇLER	51
3.1.1. Kullanılan Gereçler	51
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	52
3.1.3. Kullanılan Problar	52
3. 2. YÖNTEMLER	53
3.2.1. Materyal Seçimi	53
3.2.2. Örneklerin FISH Analizine Hazırlanması	53
3.2.3. FISH Tekniğinin Uygulanması	54
3.2.4. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi	55
3.2.5. İstatistiksel Analiz	56
4. BULGULAR	58
4.1. Çalışmamıza Katılmış Olan Olguların Özellikleri	58
4.2. Olguların Sperm Parametre Bulguları	58
4.2.1. Olguların Sperm Sayısı Bulguları	63
4.2.2. Olguların Motilitesi Bulguları	63
4.2.3. Olguların Normal Sperm Formu Bulguları	63

4.3. Olguların Sperm Kromozomu Anomali Frekansı Bulguları	65
4.3.1. Dizomi 13 Kromozom Anomali Frekansı Bulguları	65
4.3.2. Dizomi 18 Kromozom Anomali Frekansı Bulguları	65
4.3.3. Dizomi 21 Kromozom Anomali Frekansı Bulguları	66
4.3.4. XY Sperm Frekansı Bulguları	66
4.3.5. XX Sperm Frekansı Bulguları	67
4.3.6. YY Sperm Frekansı Bulguları	67
4.3.7. Diploidi Frekansı Bulguları	68
5. TARTIŞMA	77
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	81
KAYNAKLAR	83

## SİMGELER VE KISALTMALAR

$\alpha$	Alfa
ABP	Androjen Bağlayan Protein
ATP	Adenozin Tri Fosfat
AZF	Azoospermi Faktörü
$\beta$	Beta
cAMP	Siklik Adenozin Mono Fosfat
CBAVD	Konjenital Bilateral Vaz Deferens Yokluğu
CPE	Korona Penetran Enzim
DHT	Dihidrotestosteron
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FISH	Floresan In Situ Hibridizasyon
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon
GH	Büyüme Hormonu
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
hCG	İnsan Koryonik Gonadotropin
HHG	Hipotalamus-Hipofiz-Testis
hMG	İnsan Menapozal Gonadotropin
ICSI	İntra Sitoplazmik Sperm İnjesiyonu
IgA1	İmmünglobulin A1
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü
ISH	In Situ Hibridizasyon
IUI	Intra Uterin İnseminasyon
IVF	In Vitro Fertilizasyon
LH	Luteinize Edici Hormon
MIF	Müllerian İnhibiting Factor
$\mu$ l	Mikrolitre
NO	Nitrik Oksit
OPU	Oosit Pick Up
PgE	Prostaglandin E
PgF	Prostaglandin F
PSA	Prostat Spesifik Antijen

RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SDI	Sperm Deformite İndeksi
SHBG	Seks Hormonu Bağlayıcı Globulin
SRY	Y-kromozomu Seks Belirleyici Bölgesi
T	Testosteron
TDF	Testis Farklılaştırıcı Faktör
TESE	Testikiküler Sperm Eldesi
TRUS	Trans Rektal Ultrasonografi
TUR-ED	Trans Üretral Rezeksiyon Ejekülatuar Kanal
TZI	Teratozoospermi İndeksi
ÜYT	Üremeye Yardımcı Teknikler
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
Yq	Y-kromozomu Uzun Kolu

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

	Sayfa
Şekil 2.1 Hipotalamus-hipofiz-testis akısı	10
Şekil 2.2 İnsan testisinde seminifer tübüller, epididimler ve duktus defferens	13
Şekil 2.3 Testis, epididim, duktus deferensin şematik şekli	15
Şekil 2.4 Spermatogenez	18
Şekil 2.5 Spermatozoa	21
Şekil 4.1 Kromozom 13 (yeşil) ve Kromozom 21(kırmızı) için Normal Sperm	74
Şekil 4.2 Kromozom Y (kırmızı) için Normal Sperm	74
Şekil 4.3 Kromozom X (Yeşil) için Normal Sperm	74
Şekil 4.4 XXY Sperm Kromozom X (yeşil) ve Kromozom Y (kırmızı)	75
Şekil 4.5 YY Sperm Kromozom Y (kırmızı), Kromozom X (yeşil) ve Kromozom 18(mavi)	75
Şekil 4.6 Kromozom 18 için normal ve dizomik spermler	76

## TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1 İnfertil erkeğin sorgulanmasında öykü	26
Tablo 2.2 İnfertil erkeğin sorgulanmasında fizik muayene	27
Tablo 2.3 Semen analizinde referans değerleri	28
Tablo 2.4 Kruger kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi	33
Tablo 2.5 Semen hormonları ile erkekte klinik bulgular arasındaki ilişki	35
Tablo 3.1 Preparatların ön yıkama solüsyonları	56
Tablo 3.2 Preparatların denatürasyon solüsyonları	56
Tablo 3.3 Hibridizasyon sonrası solüsyonlar	57
Tablo 3.4 Görüntüleme Sistemleri solüsyonu	57
Tablo 4.1 Hafif oligozoospermili olguların yaş ve semen parametreleri	59
Tablo 4.2 Orta şiddete oligozoospermili olguların yaş ve semen parametreleri	60
Tablo 4.3 Şiddetli oligozoospermili olguların yaş ve semen parametreleri	61
Tablo 4.4 Normozoospermili olguların yaş ve semen parametreleri	62
Tablo 4.5 Olgu gruplarının semen parametreleri açısından istatistiki karşılaştırılması	64
Tablo 4.6 Hafif oligozoospermili olguların sperm kromozom anomali frekansı(%)	69
Tablo 4.7 Orta şiddette oligozoospermili olguların sperm kromozom anomali frekansı (%)	70
Tablo 4.8 Şiddetli oligozoospermili olguların sperm kromozom anomali frekansı (%)	71
Tablo 4.9 Normozoospermili olguların sperm kromozom anomali frekansı (%)	72
Tablo 4.10 Olgu gruplarının sperm anomali oranları açısından istatistiki karşılaştırılması	73

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, bir yıl korunmasız cinsel birleşmeden sonra gebe kalamama olarak tanımlanır. İnfertil çiftlerin yarısında bir erkek faktörü söz konusudur. İnfertilitede eğer erkeğe ait bir problem söz konusu ise, bu sıklıkla sperm parametrelerinde bir bozulma ile ortaya çıkar (1).

Erkek infertilitesi, etyolojisinde genetik faktörlerin de yer aldığı kompleks bir hastalıktır. Erkek infertilitesi olgularının büyük oranda idiopatik olarak adlandırılması, spermatogenez ve sperm fonksiyonlarının temel mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi ve etyolojinin bu nedenle karanlık kalması sebebiyledir (2).

İnfertil çiftlerde uygulanan yardımcı üreme tekniklerinde özellikle spermatozoon nükleer kalitesi kesin olarak belirlenmemektedir. Yapılan çalışmalarda semen parametreleri (sperm konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi) ve sperm anöploid oranları arasındaki ilişki gösterilmiştir. Yüksek sperm anöploidisi oranı yardımcı üreme teknikleri başarısında negatif bir parametredir. Anöploid ve diploid sperm üretimine yatkınlık kromozomal olarak anormal konseptus riskini arttıracaktır. Sonuç olarak bu durum implantasyon başarısızlığı ve/veya gebelik kayıplarına yol açacaktır. Özellikle üremeye yardımcı tekniklerin ICSI nin gelişmesi ile de novo kromozom anomalisi bulunan çocuk sahibi olma riskinin arttığı bildirilmektedir (3). İnfertil erkeklerin spermleri kullanılarak gerçekleştirilen ICSI gibi yardımcı üreme teknikleri sonrası gebelik sonuçları, bu kromozom anomalilerinin büyük kısmının paternal kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir (3,4,5). FISH çalışmaları ICSI yi tedavi seçeneği olarak kullanan infertil erkeklerde sperm anöploid oranının artmış olduğunu göstermektedir (3,6). Ayrıca semen parametrelerinde de anormalliklerin olabileceği bildirilmektedir. Semen parametrelerindeki bu anormallikler sperm anöploidileri ile de ilişkilendirilmektedir (3,4,7).

Genetik infertilite olgularında spermatogenik bozukluğun altında yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılacak geniş tabanlı assosiasyon çalışmaları, testiküler ve spermatozoal ekspresyon çalışmaları,

spermatogenezin moleküler mekanizmalarını aydınlatacak, gelecekte bu konudaki tanı ve tedavinin doğru yönlendirilmesini sağlayacaktır (2).

Kromozom anomalilerinin orijinini etkileyen mekanizmaları anlamak için gamet hücrelerinin incelenmesi gerekir çünkü bölünme kusurlarının büyük bir bölümü mayoz sırasında oluşmaktadır. Spontan abortus ve intrauterin ölümlerin en önemli nedeni kromozom anöploidileridir. Germ hücrelerinde kromozom ayrılamaması (nondijunction) sonucu meydana gelen anomaliler kromozomal anomalili fetus ve çocukların doğma olasılığına neden olur (3,4,5,8).

Çalışmamızda oligozoospermisi bulunan infertil erkeklerde oligozoospermi derecesi ile sperm kromozom anöplöidisi sıklığı arasındaki ilişkinin araştırılması ve kromozomal sperm nükleus profilinin yardımcı üreme teknikleri öncesi yardımcı bir test olarak kullanılıp kullanılmayacağını belirlenmesi amaçlanmıştır.



## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnfertilite

Çiftlerin yaklaşık %15'i korunmaksızın geçen düzgün bir cinsel hayata rağmen ilk bir yıl içerisinde çocuk sahibi olamamaktadırlar. Olguların % 20'sinde erkek tek başına sorumlu bulunurken, % 30-40'ında kadın faktörüne eşlik eden bir patoloji mevcuttur. Dolayısıyla, infertil çiftlerin yarısında bir erkek faktörü söz konusudur (9). İnfertilitede eğer erkeğe ait bir problem söz konusu ise, bu sıklıkla sperm parametrelerinde bir bozulma ile ortaya çıkar. Oysa sperm değerleri normal olsa da cinsel fonksiyon bozuklukları ya da penil deformiteler gibi sorunlarda infertilite nedeni olabilir. Ayrıca, spermin kalitatif bozuklukları da her zaman standart testlerle ortaya çıkarılamayabilir. Özellikle kromatin hasarları, fertilizasyon ve embriyo gelişim bozukluğu durumları da son yıllarda üzerinde sık durulan konular arasındadır. Ortadan kaldırılması ile sağlıklı gebeliklerin elde edilebileceği birçok çevresel faktör, değişik mekanizmalarla spermatozoanın kapasitasyonunu ve neticede oosit ile etkileşimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Tedaviden yeterli sonuç alınabilmesi için, tanının iyi konması gerekir. Örneğin obstrüksiyon ve hipogonadotropik hipogonadizm tedavi edilebilir patolojiler arasında sayılırken, viral orşite bağlı sekonder bilateral testis atrofisi geri döndürülemez hasardır. Ayrıca, bazı azospermik erkeklerin testislerinde aktif spermatogenez odakları mevcut olup, tedavi ile sperm yapımı uyarılabilir. Eğer semen analizindeki bozulmanın nedeni ortaya konamaz ise "idiopatik infertilite" olarak tanımlanır. Tam değerlendirilmesi neticesinde, düzeltilemeyecek bir patolojiye sahip olduğunun anlaşılması, erkeğin gereksiz ve stres yaratacak uzun tedavi protokolleri içerisine girmesini önler. Böyle çiftler ejakülat spermi ya da epididim veya testislerden elde edilecek spermlerin, in vitro fertilizasyon (IVF) / intrastoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI)'nda kullanılması ile çocuk sahibi olabilirler. Bütün bunlara ek olarak, altta yatan nedenin genetik olduğunun bilinmesi, doğacak çocuğun maruz kalabileceği anomaliler hakkında ailenin önceden bilgilendirilmesi bakımından son derece önem taşır. Bütün bu nedenler sonucunda, infertilite olgularında erkeğin ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmesi çok önemlidir. Diğer yandan, sağlıklı bir gebeliğin başarılabilmesi

için optimal değerlendirme protokolü içerisinde erkek faktörünün normal bulunmasının yanı sıra kadında ovulasyon, tubaların açıklığı ve fonksiyonel durumu, uterus kavitesinin durumu ile servikal faktörlerin de ortaya konmuş olması gerekir (1).

## **2.2.Genital Embriyoloji**

Genetik organların gelişimi genetik programlanma, hücre farklılaşması, hormonal uyarı, enzimatik aktivite ve dokunun yeniden yapılanmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Embriyo'nun cinsiyeti fertilizasyon esnasında, ovumdan gelen X kromozomu, spermden gelen X veya Y kromozomunun birleşmesi ile belirlenir. Genetik seks, gonadal seks belirlenir. Gonadal seks de daha sonra sırasıyla internal duktal sistem ve dış genitalerin uygun bir şekilde dönüşümünü sağlar. Ancak, genetik seks fertilizasyonda belirlenmesine rağmen, embriyonun erkek veya dişi morfolojik özellikleri yedinci haftaya kadar gelişmeye başlamaz (10).

### **2.1.1. Gonadların gelişimi**

Gonadlar (testisler ve overler ) üç embriyoner kaynaktan köken alır: Mezotelyum (posterior abdominal duvarı döşeyen mezodermal epitel), mezenşim (mezotelyum altındaki embriyonik bağ dokusu), primordial germ hücreleri.

Dördüncü haftanın başlarında, “yolc sac” in endodermal hücreleri arasında büyük ve sferik olarak primitif seks hücreleri (primordial germ hücreleri) görünür hale gelir. Beşinci haftada mezonefrozun ventromedial kesimindeki mezoderm kalınlaşmaya başlar. Altında kalan mezenşimin proliferasyonu ile bir şişkinlik – genital kabartı- oluşur. Bu esnada “yolc sac”ın arka duvarındaki primordial germ hücreleri dorsal mezenter boyunca genital kabartının içine göç ederler. Embriyo katlanırken “yolc sac” in dorsal kısmı da embriyonun içine katılır. Altıncı haftada genital kabartıdan uzanan parmaksı epitelyal kordlar (primer seks kordları) alttaki mezenşim içine doğru büyüyerek primordial germ hücreleri ile birleşir. Bu safhaya kadar gonadlar morfolojik olarak indifferansiyedir ve dışta korteks, içte medulla kısmı vardır. Bu sırada hem erkek, hem de dişi embriyolarda mezonefrik kanalların lateralinde paramezonefrik (Müller) kanal adı verilen yeni bir çift kanal gelişmeye başlar. Kalınlaşmış kölomik epitelin invaginasyonundan oluşan bu kanalların kaudal

uçları yapışarak ürogenital sinüsle birleşir. Kranial uçları ise kölomik boşluğa (gelecekteki periton) açılır (10).

### 2.2.2. Erkek Genital Yapıların Gelişimi

SRY (“Y”kromozomunun seks belirleyici bölgesi)’nin etkisiyle primitif seks kordlarının medüller bölgesindeki hücreler Sertoli hücrelerine farklılaşmaya başlarken kortikal bölgedeki hücreler dejenere olurlar. Seks kord hücreleri sadece SRY proteini varlığında Sertoli hücrelerine farklılaşırlar; aksi taktirde seks kordları ovaryan foliküllere farklılaşırlar. Yedinci haftada, farklılaşan Sertoli hücreleri testis kordlarını oluşturmak üzere organize olurlar. Germ hücreleri ile ilişki içindeki bu kordlar pubertede seminifer tübülleri oluşturacaklardır. Seminifer tübüllerin distalindeki testis kordları da bir lümen geliştirerek bir takım ince duvarlı kanallara dönüşerek rete testis’i oluştururlar. Gelişen gonadın medialinde, rete testisin tübülleri mezonefrik kanaldan gelişen 5-12 adet duktuli efferentes ile birleşirler. Vaz deferens de mezonefrik kanaldan gelişir. Bu esnada, testis yuvarlak hale gelmeye başlar ve etrafındaki mezonefrozla ilişkisi azalır. Testis geliştikçe, dejenere olan kortikal seks kordları tunika albuginea adını alan ve giderek kalınlaşan bir bağ dokusu tabakası kölomik (periton) epitelyumdan ayrılır. Tunika albuginea nın gelişmesi fetustaki testiküler gelişmenin karakteristik ve tanısai bir özelliğidir. Giderek büyüyen testis, mezoşium adı verilen kendi mezenterine asılı hale gelir.

SRY nin etkisiyle farklılaşıp, gelişen Sertoli hücreleri MIF (Müllerian-Inhibiting Factor) adı verilen bir glikoprotein hormon salgılamaya başlar. MIF, 8 ila 10 haftalar arasında paramezonefrik (Müller) kanalların hızla gerilemesine yol açar. Erişkin erkekte Müller kanalı artıkları appendiks testis ve prostatik utrikul olarak görülebilir. Diş embriyolarda MIF olmadığı için müler kanalları gerileme göstermez (11).

Genital kabartının mezenşimal hücrelerinden 9. ve 10. haftalarda SRY proteinine yanıt olarak Leydig hücreleri gelişir. Bu endokrin hücreler testosteron üretirler. Gelişimin erken evrelerinde testosteron üretimi plasental koryonik gonadotropin tarafından kontrol edilirken, ilerleyen aşamada pitüiter gonadotropinler kontrolü ele alır. Leydig hücrelerinin testosteron salgılaması mezonefrik kanalların vaz deferense dönüşmesini uyarır. Duktuli efferenteslerin rete testisle birleşmesi 9. haftada başlayıp 3. aya kadar sürer (10).

Seminal veziküller distal mezonefrik kanallardan gelişirken, prostat ve bulboüretal glandlar ürogenital sinüsten gelişir. Vezikula seminalisler 10. haftada filizlenme gösterirler. Prostat da aynı esnada pelvik üretradan endodermal tomucuklanmalar şeklinde gelişmeye başlar. Prostatın gelişimi testosteronun 5 $\alpha$ -redüktaz tarafından dihidrotestosterona dönüştürülmesine bağlı olarak etrafındaki mezenşim tarafından uyarılır. Prostatik tomucuklanmalar başlangıçta 5 bağımsız solid prostatik kordlar şeklindedir. Bu kordlarda 11. haftada lümen ve glandüler asini gelişir; 13. haftada ise testosteron seviyesinin artması ile birlikte sekretuar aktivitesi başlar. Prostatın gelişimi, androjenlerin etkisi altında, mezenşim-epitel etkileşimine bağlıdır (12,13).

### **2.2.3. Dış Genitallerin Gelişimi**

Dış genitallerin gelişimi 7. haftaya kadar her iki cinste de benzerdir. Ayırıcı cinsel özellikler 9. haftada görülmeye başlar, ancak dış genitaller 12. haftaya kadar tam olarak farklılaşmazlar.

Dördüncü haftadan 7. haftanın başına kadar dış genitaller indifferansiyedir. Dördüncü haftanın başında, her iki cinste de kloakal membranın kranial ucunda proliferen olan mezenşim, bir genital tüberkül oluşturur. Hemen akabinde, kloakal membranın her iki yanında labioskrotal kabartılar ve ürogenital katlantılar gelişir. Genital tüberkül uzayarak bir fallus oluşturur. Glans klitoris ve glans penisin primordiumu bir koroner sulkus ile fallusun gövdesinden ayırt edilebilir. Erkek ve dişi embriyolarda dış genitallerin görünümü 12. haftaya kadar birbirine benzerdir.

İndifferansiye dış genitallerin erkekleşmesi fetal testislerin ürettiği testosteron tarafından indüklenir. Fallus penisi oluşturmak üzere büyüyüp uzarken, ürogenital katlantılar penisin ventral yüzünde üretral oluğun lateral duvarlarını oluşturur. Bu oluk, ürogenital sinüsün fallik kısmından uzanan endodermal hücrelerin proliferasyonu ile (üretral plate) kaplanmıştır. Ürogenital katlantılar spongiöz üretrayı oluşturmak üzere penisin ventral yüzeyi boyunca birbirleriyle birleşirler. Yüzey ektodermi penisin orta hattında birleşerek penil rafe'yi oluşturur ve spongiöz üretrayı penisin içine alır. Endodermal kökenli üretral katlantıların birbirleriyle orta hatta olan birleşmeleri glans düzeyine ulaşmadan önce durursa, ventralde yüzey ektodermi de bu yapıların üzerini örtecek şekilde gelişemez, yani ventral yüzde prepsiyum ve frenulum gelişmez. Spongiöz uretra ve frenulumun gelişimi

tamamlandığında glans penisin ucundan başlayıp içeri doğru ilerleyen ektodermal hücreler spongios uretra ile birleştiğinde, distal uretra ve eksternal uretral meatusun da gelişimi tamamlanmış olur.

Onikinci haftada glans penisin çevresindeki ektoderimde içeri doğru dairesel bir ilerleme başlar ve durduğunda prepisyumu oluşturur. Korpus kavernozum ve korpus spongiosumlar fallus içindeki mezenşimden gelişirler. Labioskrotal kabartılar skrotumu oluşturmak için birbirlerine doğru büyüyerek birleşirler. Bu katlantıların birleşme hattı skrotal raphe olarak görülür.

Fötal gelişim esnasında testisler 10. torasik seviyedeki pozisyonlarından aşağı doğru inerler. Gonadların başlangıçtaki inişleri gubernakulumla bağlıdır. Testisler üçüncü aydan sonra internal inguinal halka seviyesine iner ve 7 ile 9. aylar arasında skrotuma inişlerini tamamlarlar. Testiküler iniş:

Testislerin büyümesi ve mezonefrik böbreklerin atrofisinin karın arka duvarı boyunca testislerin hareketine olanak sağlaması,

MIF etkisiyle paramezonefrik kanalların atrofisi ve bunun testislerin transabdominal olarak internal inguinal halkaya hareketini sağlaması,

Prosessus vaginalisin büyüyerek inguinal kanal içinden skrotuma doğru testise kılavuzluk etmesi ile ilişkilidir.

Testisler 26. haftada retroperitoneal olarak karın arka duvarından internal inguinal halka seviyesine inmiştir. Bu iniş ve pozisyon değişikliği relatif bir iniştir ve daha ziyade abdomenin kranial kısmının kaudal kısmından daha fazla büyümesine bağlıdır. Testislerin inguinal kanalların içinden geçerek skrotuma inişleri fötal testislerin ürettiği androjenlerin kontrolü altında gerçekleşmektedir. Testisin inguinal kanaldan geçişi esnasında gubernakulumun kılavuzluğu yanında, karın içi basıncındaki artışlarında katkısı olmaktadır. Testislerin inguinal kanallardan skrotuma inişleri 26. haftada başlamakta, 2 veya 3 gün sürmektedir. Testis skrotuma indikten sonra inguinal kanal spermatik kordun etrafında kontrakte olmaktadır. Doğumdan sonraki ilk üç ay içinde inmemiş testislerin çoğu skrotuma inebilmektedir. Bir yaşından sonra spontan iniş olmamaktadır (10).

### **2.3. Erkek Üreme Sistemi Fizyolojisi**

Erkek üreme fonksiyonu, hipotalamus, hipofiz ve testisler tarafından kontrol edilmektedir. Kısaca değerlendirilecek olursak, hipotalamo-hipofizer şant ile hipofiz

kan damarlarının yaptığı portal sistem içine hipotalamustan Gonadotropin Uyarıcı Hormon (GnRH) salınır. Ön hipofiz bezi gonadotropin salınımı için özelleşmiş olan ve GnRH tarafından uyarılan gonadotropinler içermektedir. Bu hücreler tarafından salınan Luteinize Edici Hormon (LH) ve Folikül Uyarıcı Hormon (FSH), kan dolaşımı ile testise iletilir. GnRH' a ilave olarak, Aktivin'in hipofizdeki lokal üretimi ile de FSH sekresyonu stimüle edilir (14). FSH Sertoli hücrelerini uyararak seminifer tübül epitelinde spermatogenezi başlatırken, LH intertisyumdaki Leydig hücrelerini uyararak testosteron üretimini sağlar. Testosteron sekresyonu ve sperm üretim hızı testis ile üst reproduktif aks arasında negatif feed-back ilişkiyi sağlayan bir ağ tarafından çok iyi bir şekilde düzenlenmiştir. Testosteron ve metaboliti olan östradiol GnRH ve Gonadotropin salınımını baskılayıcı rol oynarlar. Ayrıca esas olarak Sertoli hücrelerinden sekrete edilen İnhibin de gonadotropinlerde FSH salınımını baskılar.

Primer olarak Sertoli hücrelerinden salınan bir glikoprotein olan inhibin formu, inhibin B olarak adlandırılır (15). İnhibin, FSH' in  $\beta$  subünitini kodlayan genlerin transkripsiyonunu inhibe ederek, gonadotropinlerde FSH sekresyonunu engeller (16). Bozulmuş testiküler fonksiyonun değerlendirilmesinde bir belirleyici olarak İnhibin-B'nin klinik kullanımı tartışmalıdır (17).

### 2.3.1. Hipotalamus

GnRH nöronları amygdala ve her iki olfaktör ve vizüel korteksi içeren beynin diğer bölgelerindeki nöronlardan gelen uyarıları alırlar. GnRH salınımı üç tip ritmiste göstermektedir. Birincisi mevsimsel olup, Haziran-Temmuz aylarında pik yapar ve kış-erken ilkbahar aylarında en düşük düzeye inmektedir. Buradaki olası etkinin güneş ışığından çok ısı artışına bağlı olduğu kabul edilmektedir (18). İkincisi sirkadiyen ritmdir ve sabahın erken saatlerinde testosteronun en yüksek serum düzeylerine ulaşmasından sorumludur. Bu mekanizmadan pineal glanddan salınan melatonin hormonunun sorumlu olduğu sanılmaktadır. Üçüncüsü ise pulsatil salınım olup, GnRH'un her 90-120 dakikada bir pik yapmasıdır (19). Pulsatil salınımın mekanizması tam olarak anlaşılammamıştır, ancak nitrik oksit (NO) gibi noradrenerjik uyarıların rolü olabileceği düşünülmektedir (20).

GnRH nöronlarının prekürsörleri, embriyonel gelişim sırasında olfaktör kabartıdan hipotalamustaki pozisyonlarına göç ederler. Konjenital hipogonadotropik hipogonadizm yaratan bir durum olan Kallman sendromunda, GnRH prekürsörü

nöronlar normal olarak migrasyonlarını gerçekleştiremezler ve GnRH'un hipotalamik sekresyon kapasitesi gelişmez. Hipogonadotropik fonksiyon ile birlikte olfaktör defekt (anosmi) ya da diğer orta hat defektleri Kalman sendromu için tipiktir (21).

### **2.3.2. Hipofiz**

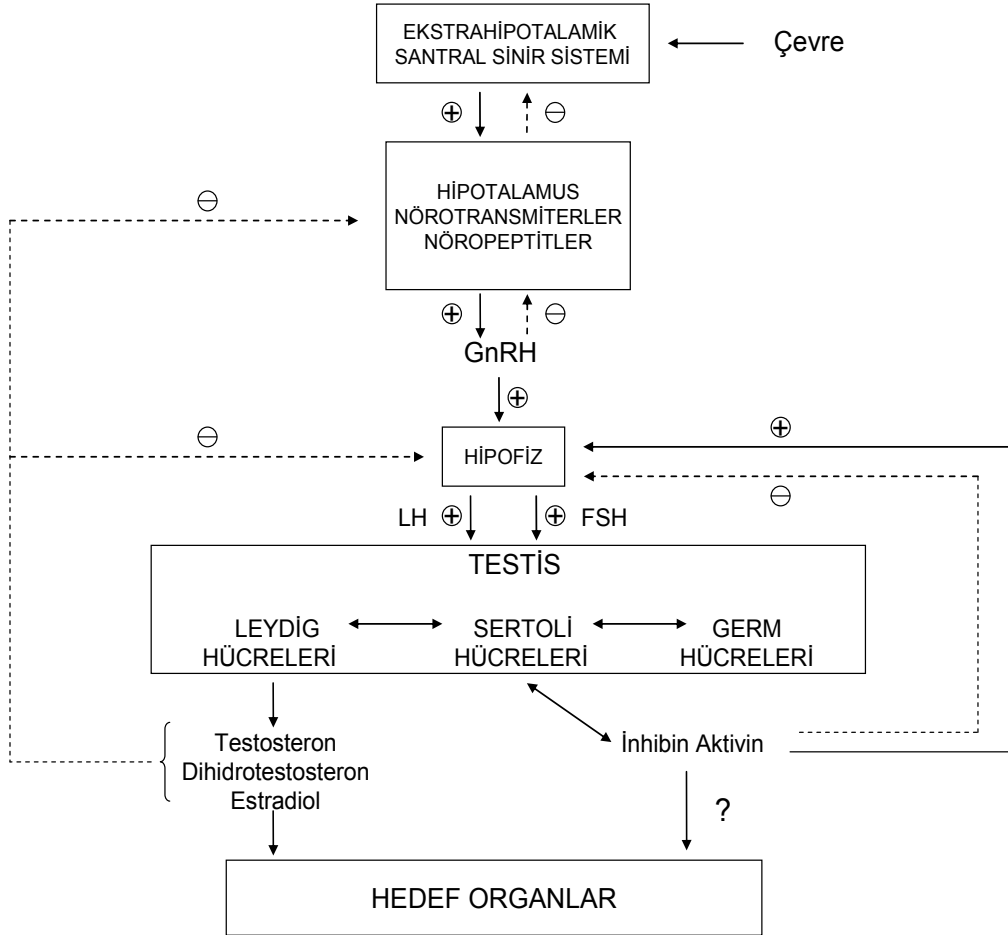
Hipofiz bezi anterior ve posterior olmak üzere iki lobdan oluşur. Posterior lob ya da nörohipofiz, hipotalamusun bir ventral dış cep uzantısı olarak gelişimi sırasında oluşur. İki nörohipofizer hormon olan oksitosin ve vazopressin salınımı, nöral stimülasyon altında yönlendirilir. Anterior lob ya da adenohipofiz kan kaynaklı faktörler tarafından düzenlenen bir yapıdır. LH ve FSH adenohipofizdeki gonadotropolar tarafından salınır. Gonadotropolarla ilave olarak adenohipofiz diğer glikoprotein yapıdaki hormonları sekrete etmek için özelleşmiş hücreleri içerir. Kortikotoplar; adrenokortikotropik hormon, laktotoplar; prolaktin, somatotropolar; büyüme hormonu ve tirotoplar; tiroid uyarıcı hormon sekrete ederler. Bu diğer dört grup hormon, erkek reproduktif sistemi üzerine önemli etkilere sahiptirler. Bu durum spermatogenezi baskılayan, prolaktinin kronik aşırı sekresyonu ile sonuçlanan hipofiz adenomu örneğinde görülebilir (22).

Normal erkeklerde LH, her bir atımda 6 IU/L olacak şekilde, ortalama 2 saatlik sıklıklarla salınır (23). Testosteron düzeyini 5 ng/ml düzeyinde devam ettirebilmek için, LH'un etkili kan düzeyi 10 IU/L olmalıdır (24).

### **2.3.3. Hipotalamik ve Hipofizer Aksın Pubertal Gelişimi**

Leydig hücreleri intrauterin gelişim sırasında seminifer tübüller arasında yerleşmiş olan mezenkimal öncü hücrelerden gelişir. Bu süreç gebeliğin 7. haftasından itibaren oluşmaya başlar ve bu dönemde fetal sirkülasyonda androjenler saptanır hale gelir. Leydig hücrelerinin steroidogeneze başlaması ile androjen bağımlı erkek üreme sistemi de farklılaşmaya başlar. Erken gebelik döneminde fetal hipofiz FSH ve LH sentezleme, depolama ve yüksek konsantrasyonlarda sekrete etme yeteneğine sahiptir. Gebeliğin ortalarında FSH ve LH pik yapar. Gebeliğin son dönemlerinde FSH ve LH düzeylerinin düşmesi, gonadal steroidlerin negatif feedback etkisine bağlıdır (25). Ancak anensefalik fetuslarda Leydig hücre gelişiminin devam etmesi gonadotropinlerin şart olmadığını göstermektedir. İntrauterin dönemde

plasentadan salgılanan insan koryonik gonadotropin (hCG), Leydig hücre gelişimi ve androjen sentezinden sorumludur (26,27).



**Şekil 2.1.** Hipotalamus-hipofiz-testis aksı

Doğumdan sonra maternal hCG uyarısının kesilmesine bağlı olarak Leydig hücrelerinde kısa süreli bir regresyon gözlenir. Yaşamın 2-3. aylarında tekrar Leydig hücre farklılaşması başlar ve kısa süreli serum testosteron yükselmesi gözlenir. Bu etkinin gonadotropin yükselmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Yaşamın ilk 2-6 aylarında oluşan bu androjen artışının hipotalamus, karaciğer, penis, prostat ve skrotum gibi androjen bağımlı organların tanınması ve yaşamın daha sonraki dönemlerinde etkileşimleri için gerçekleştiği sanılmaktadır. Nitekim yenidoğan döneminde bu androjen artışını gerçekleştiremeyen erkek bebeklerin pubertal androjen bağımlı penis büyümelerinin yetersiz kaldığı bildirilmiştir (28).



Bundan sonra pubertal gelişime kadar Leydig hücreleri tekrar regresyona uğramakta, testisler ve HHG aks sessiz bir döneme girmektedir. Serum LH ve FSH düzeyleri 6-8, testosteron düzeyi 10-12 yaşlarında dereceli olarak artmaya başlar ve LH düzeyi erişkin dönemde 116 kat artış gösterir. Hipotalamustan GnRH'nun pulsatil salınımı 12 yaş dolaylarında oturmaya başlar. Puberte döneminde GnRH'nun pulsatil salınımının geceleri daha fazla olması kısmen de olsa pineal bezden salgılanan melatonin hormonunun gece aktivitesinin azalmasına bağlıdır. Gonadostat hipotezine göre puberte dönemine kadar HHG aksın sessiz kalmasını sağlayan mekanizmalar, melatonin hormonunun hipersekresyonu ve testosteronun 5 alfa-redüktaz ve 3 alfa-hidroksisteroid dehidrogenaz enzimleri ile daha zayıf feed-back etkileri olan dihidrotestosteron (DHT) ve androstendiol gibi androjenlere dönüşümü ile olmakta ve bu dönemde testisler steroidogenez yeteneğini kazanmaktadır. Puberteye geçiş, bunların dışında beslenme durumu ve vücudun büyüme hızından da etkilenmektedir. Büyüme hormonu (GH) ve parakrin mediatörü olan insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I)'in de üreme sistemi üzerinde uyarıcı etkileri olduğu gösterilmiştir (29). Yakın zamanda yapılan bazı çalışmalarda, vücutta yağ dokularının dağılımından sorumlu bir sitokin olan leptin'in puberte gelişiminde ve HHG aksın modülasyonunda rol aldığı, leptin reseptör geni defektlerinde erken obezite ve pubertal gecikme olduğu bildirilmiştir (29,30). Leptinin gonadotropin salınımını artırdığı (31), testiste reseptörleri olduğu ve burada inhibitör etki gösterdiği bildirilmesine rağmen, etki mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır (32).

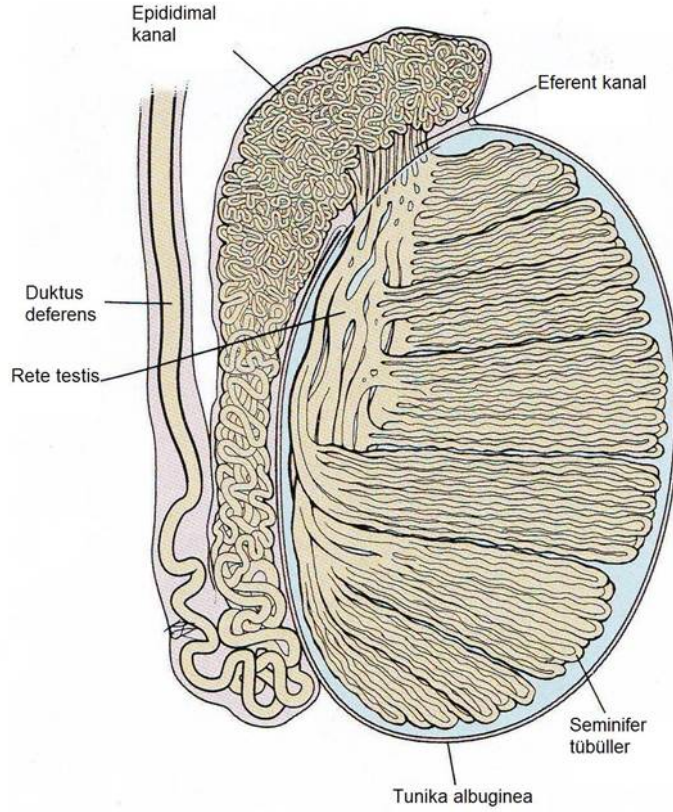
### 2.3.4 Testis

Testisler erkek üreme fizyolojisinde ekzokrin ve endokrin fonksiyonları ile etkin olan bir çift organdır. Hipotalamo – hipofizer aks yolu ile fonksiyonları regüle edilen testislerde ekzokrin fonksiyon ile spermatogenez, endokrin fonksiyon ile testosteron sentezi yapılır (33).

**Ekzokrin fonksiyon:** Testisin ekzokrin fonksiyonu, seminifer tübüllerde sperm hücresinin oluşmasıdır. FSH'nın kontrolü altında olan bu fonksiyonda etkin olan hücreler sertoli hücreleri ve germ hücreleridir. Sertoli hücreleri seminifer tübül bazal membranı üzerine oturmuş ve lümene doğru uzanan kompleks sitoplazmalı hücrelerdir. Vücudun en kuvvetli hücreler arası bariyeri ile kendi aralarında bağlantılı olan Sertoli hücreleri seminifer tübülü, bazal ve luminal olarak iki kısma

ayırmaktadır. Bu anatomik özellik spermatogenezin kan dolaşımından ayrılmasını sağlayan kan-testis bariyerini oluşturmaktadır. FSH'a afinitesi fazla olan Sertoli hücreleri, FSH etkisi ile androjen bağlayıcı protein (ABP) sentez ederek, seminifer tübül lümenine bu proteini salgılar. ABP, seminifer tübülde testosteronu bağlayarak, kan testosteronundan 20-50 kat daha fazla intratestiküler testosteron seviyesi sağlamaktadır. Ayrıca FSH etkisiyle Sertoli hücreleri, transferin, serüloplazmin, laktat ve bir dizi büyüme hormonu ile spermatogenezde rol oynamaktadır. Spermatidlerden spermatozoa oluşumu sırasında ise golgi apparatusundan akrozom, sentriollerden flagellum oluşumu gibi bazı süreçler meydana gelmektedir (33).

**Endokrin fonksiyon:** Testisin endokrin fonksiyonu LH etkisiyle Leydig hücrelerinde, pregnanolondan testosteron sentez edilmesidir. Günde yaklaşık olarak 5 gram sentez edilen testosteron pulsatil olarak salgılanmaktadır. Ancak bu pulsatil salınım yavaş metabolik klirens ve sekresyon amplütütündeki değişkenlik nedeniyle sadece gonadal venlerde belirlenebilmektedir. Sentez edilen testosteronun %98'i seks-hormone-binding globulin (SHBG) ve albümine bağlı geriye kalan %2'lik kısmı serbest olarak bulunur. Biyolojik aktif testosteronun serbest testosteron olduğunun bilinmesine rağmen, son zamanlarda bağlı testosteronun da dokulara penetre olma özelliğinin olduğu ve biyolojik etkinlik gösterebildiği bildirilmektedir. Leydig hücrelerinde sentez edilen testosteron, 5-alfa redüktaz enzimi ile DHT ve aromataz enzimi ile östradiole dönüşmektedir. Bu iki aktif metabolitten DHT, testosteronun periferik doku etkisini göstermesinde etkin olmaktadır. Ancak testis ve iskelet kasında testosteronun etkili olması için DHT'na dönüşümü gerekli değildir. Testisin endokrin fonksiyon olarak kabul edilecek diğer iki salgısı inhibin ve aktivindir. Sertoli hücrelerinde sentezlenen inhibin negatif feed-back yoluyla FSH salınımını baskılamaktadır. Aktivin, FSH salınımını aktive etmektedir. Testis dışında başka dokularda da salgılandığı belirlenmiş olan aktivinin vücuttaki pek çok büyüme olayında regülatör olduğu bildirilmektedir (33).



**Şekil 2.2.** İnsan tetisinde seminifer tübüller, epididimler ve duktus defferens.

### 2.3.5. Posttestiküler Transport

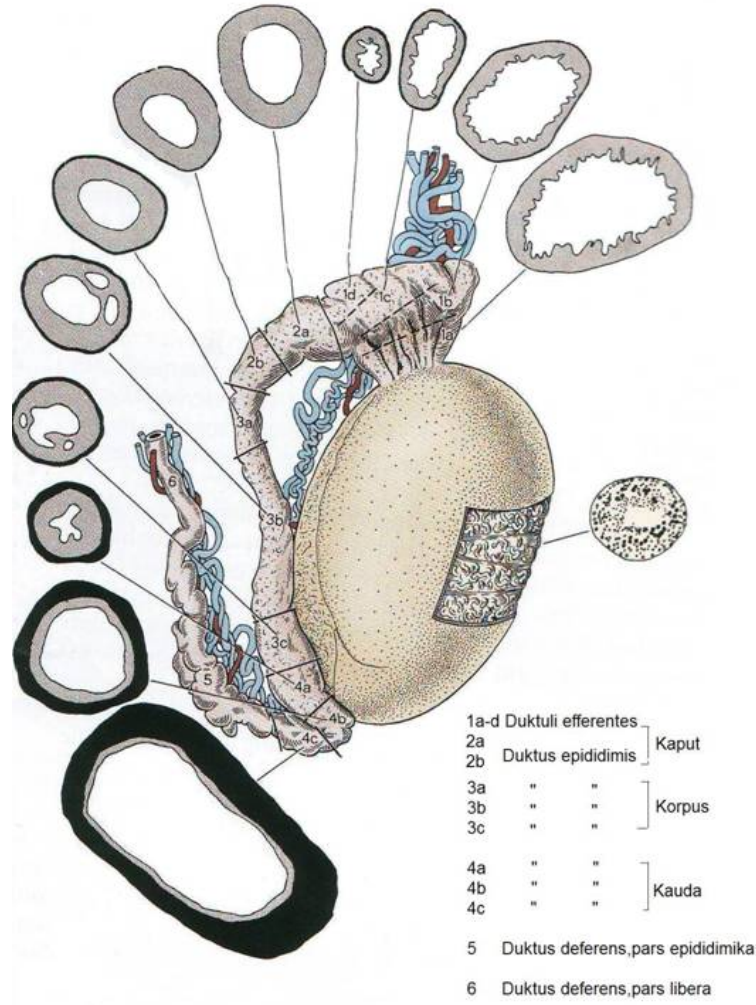
HHG aks yoluyla kontrol edilen testiküler ekzokrin fonksiyon sonucu gelişen testiküler spermatozoa, halen daha motilite ve fertilizasyon matürasyonunu tamamlamamıştır. Erkek üreme sisteminde, testisten sonra sperm transportunda rol oynayan epididim, vaz deferens, veziküla semanialis ve diğer aksesuar seks glandları spermatozoanın hem motilite hem de fertilizasyon maturasyonunu sağlamaktadırlar (33).

**Epididim:** Tübüler yapıda olan epididimler, yaklaşık 3-4 metre uzunluğunda, farklı çaptaki tübüllerden oluşmaktadır (34). Testisle, duktuli eferentis ve rete testislerle devamlılık gösteren epididim, kaudal kısımda farklılaşarak vaz deferens olarak devam etmektedir. Histolojik özellikleri farklı kaput, korpus ve kauda olarak üç ayrı segmentten oluşan epididimler, özellikle sperm motilite maturasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Duktuli eferentiste bulunan silialı ve absorbtif-resobtif yönde farklılaşmış iki tip siliasız hücre, üreme kanalının bu seviyesinde hemen hemen % 0 hareket özelliği olan sperm hücresinin transportunda aktif rol oynarlar.

Epididim korpus ve kaudasına doğru kontraktıl özelliği olan hücreler ve kauda epididimde artık belirgin olarak saptanan düz kas tabakası, bu seviyede sperm transportunda etkin olmaktadır. Sperm hücrelerinin, epididimdeki yaklaşık olarak 2-12 günlük transport süresinde motilite ve fertilitate matürasyonu gerçekleşmektedir (35,36,37). Proksimal kaput epididimde yaklaşık % 3 hareket özelliği olan sperm, kaudaya geldiklerinde yaklaşık olarak % 60 oranında dar kavisli ve hızlı ileri hareketi sağlayan, kuyruk hareketi özelliğine kavuşmuş olmaktadır. Epididimal sperm transportunda, sperm motilite matürasyonu yanında fertilizasyon açısından da matüre olmaktadır. Özellikle bu matürasyonun korpus distalinde ve kauda proksimalinde meydana geldiği bildirilmektedir. Deney hayvanlarında epididimal matürasyon sırasında sperm hücrelerinde glikoliz kapasitesinde artma, hücre içi pH ve kalsiyum içeriğinde değişme, adenin siklaz ve hücre fosfolipid içeriğinde değişiklikler saptandığı bildirilmiştir. Ancak insan sperm hücrelerinin epididimal matürasyonundaki patogonomik değişiklikleri hala net olarak ortaya konamamıştır (33).

**Vaz Deferens:** Kauda epididimden, ejakülatör kanallara kadar sperm transportunu sağlayan ve yaklaşık 30-35 cm uzunluğunda olan vaz deferens epididimal, skrotal, inguinal, retroperitoneal ve ampullar olarak beş segmentten oluşmaktadır. Vaz deferensler, kompleks kas tabakası ve lümenini örten bazal hücreler ve stereosilia içeren hücreler ile sperm transportunu sağlamaktadır. Emisyonun hemen önce distal epididim ve proksimal vaz deferensinde sempatik kompleks innervasyon ile sperm transportunun olduğu saptanmakla birlikte vaz deferenslerde yaklaşık olarak 130 milyon sperm rezervinin bulunduğu bildirilmiştir (33).

**Veziküla Seminalis:** Tübüler yapıda olan ve duvar yapısının %80'ini kas yapısı oluşturan veziküla seminalisler ejakülasyon sırasındaki 50cm su basıncına çıkan kontraksiyonları ile sperm transportunda etkili olmaları yanında, fruktoz gibi sperm enerji kaynağını oluşturan salgıları ile üreme fizyolojisinde etkin olan organlardır (33).



Şekil 2.3. Testis, epididim, duktus deferensin şematik şekli

## 2.4. Spermatogenez

İnsan vücudundaki en karışık hücresel farklılaşma olaylardan birisi olan spermatogenez, spermatogoniumdan olgun spermiumun geliştiği bir süreçtir (38-41). İnsanlarda tüm spermatojenik süreç yaklaşık olarak 64 gün sürer (42). Olgun spermatozoanın ejakülatta görülmesi ise 74 gün alır. Spermatogenez, testiste seminifer tübüllerde meydana gelir. Bu bölgede, Sertoli hücreleri ve spermatogoniumlar olmak üzere iki tip hücre vardır. Vitellus kesesinin duvarında gelişen endodermal kökenli germ hücreleri, embriyonik hayatta testise göç ederek seminifer tübüllere yerleşir ve spermatogonium adını alırlar (43). Puberte öncesinde seminifer epitelin çok büyük bir kısmını Sertoli hücresi oluşturur (44). Spermatogoniumların gelişimi, hipofizden salgılanan gonadotropinlerin etkisiyle

puberteden hemen önce başlar, yaşam boyu devam eder ve seminifer epitelyumdaki çoğunluğu ele geçirir (38,41,43,44).

Yetişkinde spermatogoniumların Sertoli hücrelerine oranı yaklaşık 13:1 dir (43). Spermatogoniumlar, sertoli hücreleri tarafından oluşturulan bazal kompartmanda yer alırken, primer ve sekonder spermatozoidler, spermatozoidler ve spermiumlar ise adluminal kompartmanda yer alır (45). Spermatogenez; spermatogonial, spermatozoid ve spermatozoid olmak üzere 3 ayrı fazda incelenir.

#### **2.4.1. Spermatogonial Faz (Spermatozoidogenez)**

Seminifer tübül bazal membranı üzerinde oturan spermatogoniumlar, küçük diploid germ hücreleridir, puberteye kadar bölünmezler (39,45). Pubertede spermatozoidogenez başlar, spermatogoniumlar mitoz bölünmeyle çoğalarak, yerlerine yeni gelecek spermatogoniumları ve en nihayetinde primer spermatozoidleri oluşturur (38,39,41,45). Spermatogoniumlar ışık mikroskopik incelemede nükleuslarının belirgin koyu görünümüyle ayırt edilir (38). Sitoplazmada nükleus çevresinde yerleşen ve 6µ çapında olan Lubarsch kristaloidleri bulunur (43). İnsan spermatogoniumları rutin histolojik preparatlardaki görünümleri temel alınarak 3 tipe ayrılmıştır:

**1-Koyu Tip A spermatogoniumlar:** Seminifer epitelin kök ya da rezerv hücreleri olarak değerlendirilirler (38,41,45). Düzensiz aralıklarla bölünerek, hem yeni koyu Tip A spermatogoniumları, hem de açık Tip A hücreleri meydana getirirler (46).

**2-Açık Tip A spermatogoniumlar:** Koyu Tip A hücrelerle aynı özelliklere sahiptirler. Testosteronun etkisiyle mitoz bölünmeyle çoğalırlar ve yeni açık Tip A hücreleri ve Tip B hücreleri meydana getirirler (38,45).

**3-Tip B spermatogoniumlar:** Açık Tip A spermatogoniumlara benzerler (38,45). Mitozla bölünerek primer spermatozoidleri meydana getirirler (38).

Bir koyu Tip A spermatogoniumun bölünmesi ile oluşan yeni hücreler ince sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlı olarak kalırlar, yani nükleusları tam olarak bölünse de, sitoplazmaları tam anlamıyla ayrılmaz (38,39,45-47). Bu yüzden meydana gelen hücreler, inci dizileri gibi birbirine bağlıdırlar (38,48). Bu sitoplazmik bağlantılar, spermatozoid olgunlaşmasının son dönemlerine kadar devam eder ve bir orjinal koyu Tip A hücreden her bir klonun senkronize gelişimi ve

hücrelerin birbirleriyle iletişimi için yaşamsal önem taşır (38,48). Ayrıca bu köprülerin hücreler arasında RNA ve protein değişimini kolaylaştırdığı da düşünülmektedir (46). Seminomlarda ve intratübüler germ hücre neoplazmlarında bu bağlantıların bulunmadığı görülür (43).

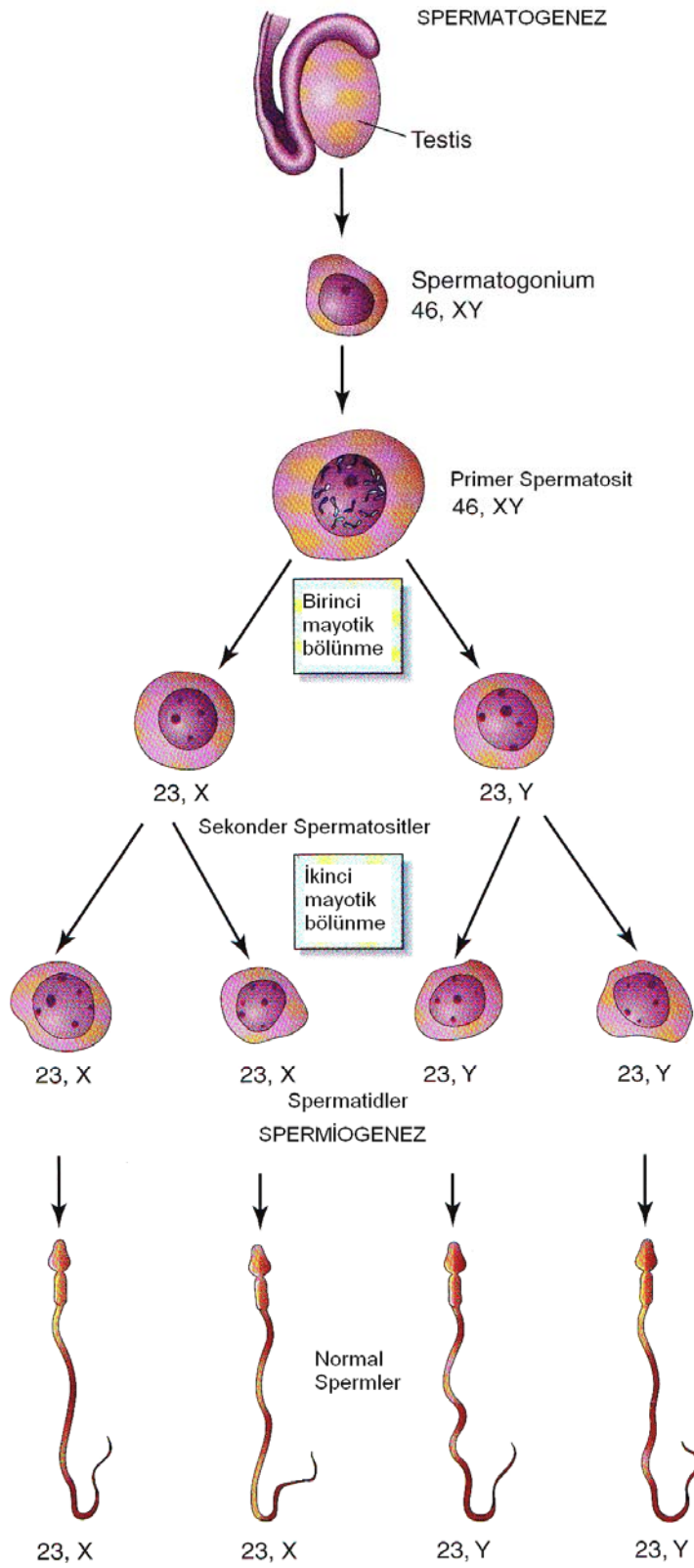
#### **2.4.2 Spermatozit Fazı (Mayoz)**

Primer spermatozidler oluşuktan kısa bir süre sonra (preleptoten aşamada) bazal kompartmandan adlüminal kompartmana göç ederler. Bu hücreler mayoz başlamadan önce DNA'larını replike ederler (39,43,45). Böylece her bir primer spermatozit diploid kromozoma ve  $2n$  miktarda DNA'ya sahip olur. Ardı ardına gelen iki mayoz bölünme, hem kromozom sayısında, hem de DNA miktarında azalma ile sonuçlanır (38,44,45). İkinci mayoz bölünme ile her bir sekonder spermatozitten,  $n$  (haploid) miktarda DNA'ya ve aynı miktarda kromozoma sahip iki adet spermatid meydana gelir (38,39,41,44,45).

#### **2.4.3 Spermatid Fazı (Spermiogenez)**

Spermatidler  $8\mu$  çapında, küçük yuvarlak haploid hücrelerdir. Tek bir açık Tip A spermatogoniumdan meydana gelen bütün spermatidler, hücreler arası köprülerle birbirlerine bağlıdır (45). Bir spermatid oluşuktan sonra, bir daha bölünme olmaz (38,45). Haploid spermatidler, olgun spermiumu meydana getirecek olan ve spermiogenez olarak adlandırılan bir farklılaşma sürecine girerler (38). Yoğun bir transformasyonun gerçekleştiği bu süreçte, nükleus karakteristik şeklini alır, artık sitoplazma elimine edilir, akrozom ve kuyruk gelişir (38,39,41,45,47). İnsanlarda bu aşama yaklaşık 16- 22 gün sürer (39,49).

Yoğun bir yeniden yapılanma süreci olan spermiogenez, dört dönemden oluşur (38,45). Bu aşamalar, spermatidler sertoli hücresinin plazma membranına özelleşmiş bağlantılarla bağlıyken gerçekleşir (38).



**Şekil 2.4.** Spermatogenez



### **Golgi dönemi:**

Spermatidin granüllü endoplazmik retikulumunda oluşan hidrolitik enzimler, Golgi komplekslerinde modifiye olur ve küçük pre-akrozomal granüller olarak paketlenir (38,44,45). Glikoproteinden zengin olan bu granüller birbirleriyle birleşerek akrozomal vezikülü oluştururlar (38,45). Nükleus membranı ile ilişkili olan bu vezikülün yerleşimi, gelişen spermiumun ön kutbunu belirler. Aynı zamanda bu aşamada, sentrioller jukstanükleer bölgeden akrozom vezikülün zıt kutbuna, yani spermatidin posterior kutbuna göç ederler (38,39,45). Sentriollerin biri, sperm kuyruğunun aksonemini oluşturan 9 periferik ve 2 santral mikrotübül oluşumunu başlatırken, diğeri nükleus ile kuyruğu birleştiren bağlantı parçasını meydana getirir (38,39,45,47). Sentriollerin bu göçü, başka bir hücre tipinde görülmez (39).

### **Cap (Kep-şapka) dönemi:**

Bu aşamada boyutu büyüyen akrozomal vezikül, nükleusun ön yarısı üzerine doğru yayılarak akrozomal cap (akrozom) adını alır (38,45,46). Akrozomal cap, altındaki nükleer membranla kısmen ilişkilidir, bu bölgedeki membran normalde varolan nükleer porlarını kaybeder ve kalınlaşır (38,39).

### **Akrozom dönemi:**

Bu aşamada spermatid morfolojisinde birçok değişiklik meydana gelir (38,45). Nükleus ve üzerindeki akrozom, üstteki plazma membranının hemen altına doğru hareket ederken, sitoplazma posterior tarafa doğru yer değiştirir (38). Sitoplazmadaki hücre iskeleti elemanı olan mikrotübüller, manşet adı verilen silindirik bir yapı oluştururlar (38,43,45,47). Gelişen kuyruğu saran plazma membranı arkaya doğru hareket ettikçe manşet kaybolur. Mitokondriler sitoplazmanın arka kısmına doğru hareket ederek, heliks şeklinde fibrilleri sarar (38,45,47). Spermiumun hareketi için gereken enerjinin sağlanmasında mitokondriler anahtar rol oynar (50). Bu bölge spermium kuyruğunun orta parçasıdır. Mitokondrial kılıfın oluşumu sırasında, nükleusla birlikte spermiumun bağlantı parçasını meydana getirecek olan sentriolden, aksonemin etrafında yerleşen dokuz adet dış koyu kılıf meydana gelir (38,45). Bu bölge spermium kuyruğunun orta parçasıdır. Orta parçanın distalinde, iki longitudinal piramit ve çok sayıda bağlantı biriminden oluşan fibröz bir kılıf, esas parçanın 9 longitudinal fibrilini sarar ve hemen hemen kuyruğun

sonuna kadar uzanarak esas parçayı oluşturur (38,45,47). Fibröz kılıfın distalinde kalan kısa kuyruk parçası ise son parça adını alır (38).

### **Olgunlaşma dönemi:**

Spermatid şekillenmesinin bu son aşaması, fazla sitoplazmayı azaltmaya yönelik bir işlemdir. Sertoli hücreleri, artık cisim olarak adlandırılan bu fazla sitoplazmayı fagosite eder. Hücreler arası köprüler, bu fagosite edilen artık cisimlerde kalırlar. Dolayısıyla spermatidler artık birbirine bağlı değildirler (38,39,45). Farklılaşma işlemi sona eren spermiumun tübül lümenine salınması işlemine spermiyasyon adı verilir. Yeni oluşan bu spermium immotildir ve henüz fertilize etme yeteneğine sahip değildir (45).

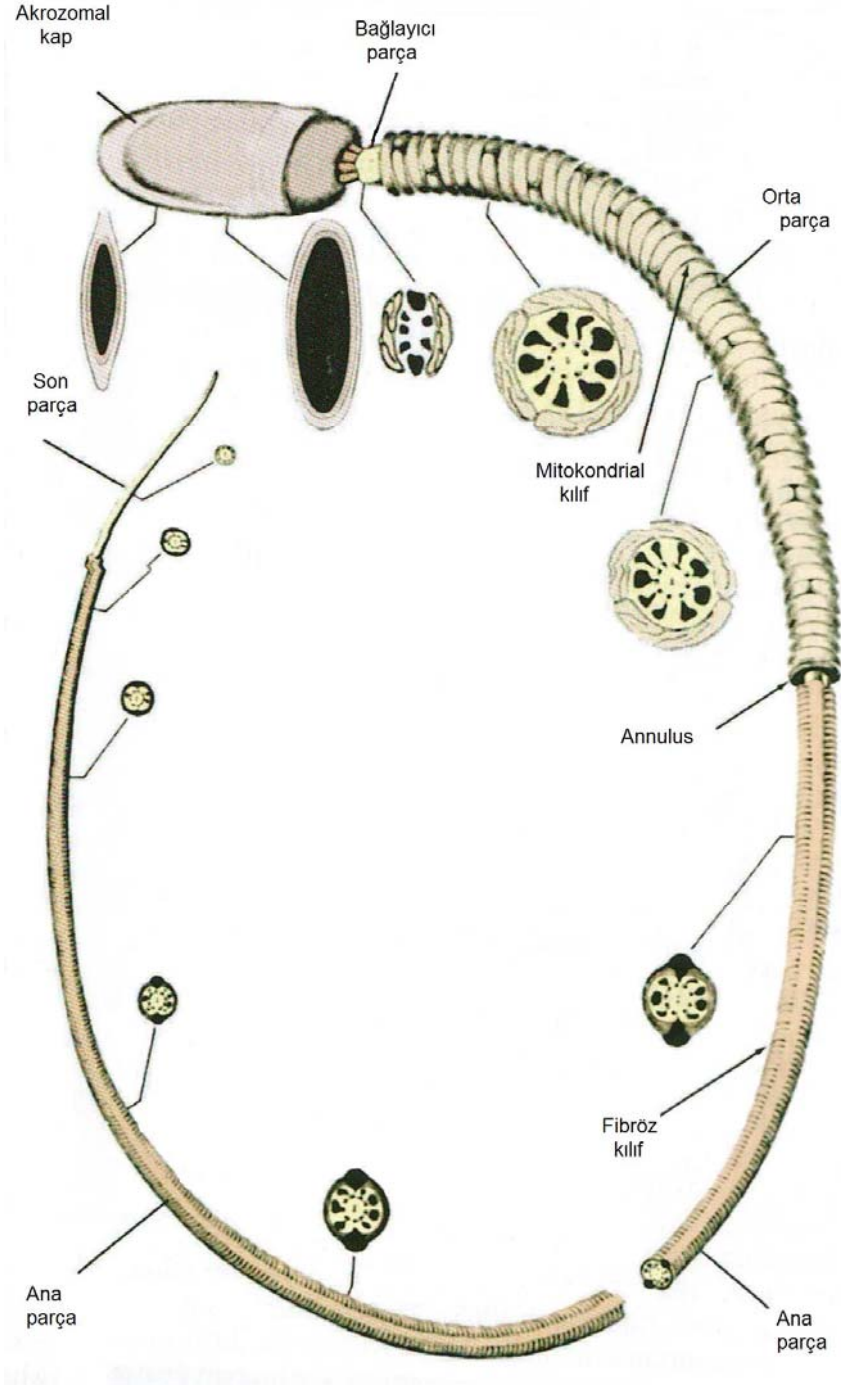
Spermiyondan sonra spermatozoa 2-4 haftalık bir evreden geçerek epididime ulaşır. Bu süre içinde spermatozoa daha ileri olgunlaşmaya uğrar, hareketlilik kazanır ve sitoplazmasının tamamını kaybeder.

Spermatozoa epididime peritübüler myoid hücreler ve testis kapsülünün kasılması ile sağlanan seminal sıvı akıntısı tarafından taşınır. Epididim özgülleşmiş epitelyum hücreleri ile kaplıdır ve kasılabilen kas hücreleri ile sarmalanmıştır. Androjen bağımlı olarak gelişen ve fonksiyon gösteren epididim boyunca sıvı osmolaritesi, elektrolitler ve birçok küçük molekülün konsantrasyonlarında değişiklik olur.

Epididimal ve seminifer tübül sıvıları tarafından sağlanan proteinler spermatozoanın zarlarına bağlanır ve hareketlilik ve dölleme becerilerini artırır. Epididimin ilk bölümünde spermatozoanın hareket kabiliyeti yoktur. Ancak epididime geldikten 18-24 saat sonra hareket yeteneğini kazanmaktadır (51).

Olgun sperm hücresi, yani spermatozoa yaklaşık 60 $\mu$  boyutunda olup, baş, boyun, orta parça ve kuyruk kısımlarından oluşur. Oval ve yassı olan baş kısmı 4,5x3 $\mu$  boyutundadır. Başın büyük kısmını nükleus kaplar. Başın 2/3 ön kısmı akrozom denen bir kılıf ile örtülmüştür. Akrozomun dış ve iç olmak üzere iki tabakası vardır. En dışta plazma membranı bulunur. Spermatozoa ovuma yaklaştığında plazma membranı ile dış akrozom kılıfı birleşir ve dışarı açılarak içindeki enzimleri ortama salar (akrozom reaksiyonu). Bu enzimler ovumun etrafını saran hücre tabakalarını ve zarları eritmeye yarar. Kumulus ooforusu eriten hyalüronidaz, korona radiatayı eriten corona penetrating enzim (CPE) ve zona

pellüsidayı eriten ise akrozin enzimidir. Sperm başının ovum sitoplazması içine girmesini takiben zonadaki açıklığın tekrar onarılması için gerekli neuriminidase enzimi de akrozomdan salgılanır (52).



Şekil 2.5. Spermatozoa

#### 2.4.4. Spermatogenezin Genetik Özellikleri

Fötal dönemde gonadal dokuların farklılaşması ve çoğalmaları tamamen Y kromozomu tarafından organize edilir. Y kromozomunda SRY geni bulunur. Bu gen TDF (testis determining factor) olarak adlandırılan özel bir plazma proteini sentezine sebep olur. Testislerin morfogenezi TDF tarafından sağlanır. TDF proteininde oluşacak genetik defektler fenotipte ve fertilizasyonda değişik tablolarla kendini belli eder.

Y kromozomunun uzun kolu (Yq) üzerinde spermatogenezden sorumlu 3 adet bölge vardır: Azoospermia Factor (AZF) olarak adlandırılan AZFa, AZFb ve AZFc (DAZ) bölgeleri. Bu bölgelerde spermatogenezi sağlayan çok sayıda gen yer alır. AZFa bölgesindeki genlerin kaybının Sertoli cell only sendromundan, AZFb matürasyon arrestinden, AZFc ise değişik derecede oligo-azoospermiden sorumludur. Her ne kadar, genotip/fenotip arasında kesin bir ilişki kurulamamış olsa da, çoğu çalışmalar bu görüşü desteklemektedir.

Leydig hücrelerinde testosteronun sentezlenmesi LH'un stimülasyonu ile olur ve kolesterolü substrat olarak kullanır. Bu mekanizma içinde çeşitli enzimler yer alır. Enzimlerde bir defekt olursa yetersiz virilizasyon ya da sadece infertilite ile sonuçlanabilir. Bunlarda ileri derecede oligozoospermi ya da azospermi görülebilir. testosteronun DHT'a çeviren 5 $\alpha$  redüktaz enzim defekti ve testosteron ya da DHT 'u sitoplazmaya taşıyan veya ilgili sitoplazma/nükleus reseptörlerine bağlayan enzimler ve bu reseptörlerdeki defektler de neticede değişik klinik tablolar şeklinde virilizasyon bozukluğuna neden olabilir. Bunlarda sadece infertilite görülebilir. İdiopatik infertilite olgularının yaklaşık %40'ının androjen yetersizliği sonucu oluşan azospermi yada oligozoospermiye bağlı olduğu gösterilmiştir (52).

#### 2.4.5. Endokrin Faktörler

Hipofizden salgılanan gonadotropinler olan FSH ve LH spermatogenezin esas düzenleyicileridir (39,41,46,53,54). LH, Leydig hücrelerini testosteron sentezlemesi için uyarır (38,39,41,53). Testosteronun testiste dolaşımdakinin en az 200 katı kadar bulunması, spermatogenik hücrelerin çoğalması ve farklılaşması için gereklidir (38). FSH ve testosteron normal spermatogenez için yaşamsal önem taşır (38,41,53). Germ hücreleri FSH ve testosteron reseptörleri içermediklerinden, bunların esas etki alanı Sertoli hücreleridir (38,39,54). FSH'un spermatogonial proliferasyonu uyarıcı etkisi

sayesinde, Sertoli hücreleri spermatogenezde primer düzenleyici olarak rol oynarlar (38,41). Testosteron, sertoli hücrelerinin spermatidlere yapışmasını, dolayısıyla spermiogenezi indükler, ayrıca peritübüler hücreleri de etkiler (39,41,53). Hem FSH hem de testosteronun, germ hücre apoptozisini Sertoli hücreleri aracılığıyla indirekt olarak baskıladığı gösterilmiştir (41,55). Seminifer epitelin hormonal uyarıya yanıtı, lokal faktörlerin etkisiyle düzenlenir (39).

Primer spermatositler ve spermatidler, hem  $\alpha$  hem de  $\beta$  östrojen reseptörü içermektedirler (41,54,56). Östrojen reseptör fonksiyonu, normal spermatogenezin gerçekleşmesi için gereklidir. Tiroid hormonlarının da Sertoli hücreleri aracılığıyla indirekt olarak spermatogenezini etkilediği bilinmektedir (47).

Sertoli hücreleri tarafından salgılanan inhibin B ve testiküler volüm arasında bulunan korelasyon, inhibin B'nin spermatogenez için iyi bir endokrin belirleyici olduğunu ortaya koymuştur (57).

#### **2.4.6. Diğer faktörler**

Endokrin kontrolün yanı sıra, birçok parakrin sinyalin germ hücresinin kaderinin belirlenmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (47,54,55). Spermatogenezin kontrolünde, hücreler arası ilişkiler (Sertoli hücresi, Leydig hücresi, germ hücresi, peritübüler miyoid hücreler), sitokinler, büyüme faktörleri, enzimler, transport proteinleri ve adezyon molekülleri etkilidir (41,47) .

Kalsiyum, magnezyum, bakır ve çinkonun spermatogenez için önemli olduğu bilinmektedir. Çinko, spermium nükleusunun kromatin yoğunlaşmasında işlev görür (58).

Testiküler makrofajlar, direkt ve indirekt yoldan Sertoli hücresi aktivasyonunu ve germ hücrelerinin yaşamını etkiler. Spermatogenezin hasarlandığı olgularda, testisteki makrofaj sayısının arttığı bildirilmiştir (59).

Artan yaşla birlikte spermatogenezde bazı değişiklikler meydana gelir. Koyu ve açık TipA spermatogoniumların sayısında azalma, genetik bozukluklar ve spermatidlerde görülen malformasyonların yanı sıra, yaşla birlikte Sertoli hücrelerinin sayısında da azalma görülür.

Spermatositler, spermatidler ve spermiumlar spesifik antijenler salarlar, fakat sperm hücresi yapımı pubertede başladığı için, bu antijenler, puberteye kadar

oluşmazlar.Bu nedenle immun tolerans gelişmez. Daha sonra otoantikörlerin gelişimini ise kan-testis bariyeri engeller.

Spermatogenik hücreler, özellikle spermatoisitler toksik ajanlara karşı çok duyarlıdır. Beslenme bozuklukları, sistemik hastalıklar, yaygın yada lokal infeksiyonlar, genetik bozukluklar, testiküler ısının yükselmesi, steroid hormonlar ve onlara benzer ilaçlar, kemoterapötik ilaçlar, antimetabolitler, kadmium tuzları, kurşun ve pestisitler gibi toksik ajanlar, mutajenler ve radyasyon spermatogenezi etkileyen faktörler arasında sayılabilir. Bu ajanlar, sperm üretimini azaltırlar, kromozomal ve morfolojik anomalilere yol açarlar (38-41,46,49,60,61).

## 2.5. İnfertil Erkeğin Değerlendirilmesi

İnfertilite, bir yıl korunmasız cinsel birleşmeden sonra gebe kalamama olarak tanımlanır. Normal bir çiftin bir ay içerisinde gebe kalma şansları %20-25, altı ay içerisinde %75 ve bir yıl içerisinde ise %90' dır. Gebeliklerin çoğu ovulasyon günü veya ovulasyondan önceki altı gün içerisinde bulunan cinsel ilişki neticesinde görülür. Sadece ovulasyonu takip eden günlerde bulunulan cinsel ilişkilerin çok azı gebelikle sonuçlanır. Hem erkek hem de kadın için 24 yaşında fertilizasyon oranları en yüksektir. Fertilizasyon oranları bu yaştan sonra her iki cinste de azalmaya başlar. İnfertilite olgularının yaklaşık %20'si tamamıyla bir erkek faktöründen kaynaklanmaktadır. %30-40'ında ise hem erkek hem de kadın faktörleri birlikte görülür. Dolayısıyla infertil çiftlerin yarısında en az bir erkek faktörü söz konusudur (62).

İnfertil erkeğin değerlendirilmesine öykü almak ile başlanır. İlk değerlendirme fizik muayene ve başlangıç laboratuvar incelemeleri ile tamamlanır. Öykü, fizik inceleme ve laboratuvar sonuçlarına göre ayırıcı tanı için ek özel testlere yönelinmelidir (Tablo 2.1 ve Tablo 2.2).

Erkeklerde infertiliteye yol açan durum ve durumları tespit etmek değerlendirmenin temel amacıdır. İnfertiliteye yol açan özel bir neden bulunursa tedavi ona yönlendirilerek sonuca gidilir. Ancak olguların çoğunda infertilitenin idiyomatik olduğu da unutulmamalıdır. Bilinen bir etyolojik faktör saptanamıyor ise ampirik tedavi, IUI veya IVF gibi tedavi yöntemleri önerilebilir. Alternatif olarak donör inseminasyon ve evlat edinme unutulmamalıdır. Eşlere her türlü alternatif anlatılmalı, hasta uzun süreli ve sonuçsuz tedavilerle oyalanmamalıdır(63).

İnfertil erkeğin değerlendirilmesindeki hedefler:

1-Düzeltilbilir durumların,

2-Başka yöntemlerle düzeltilemeyen ancak erkeğin spermini kullanarak yapılan ÜYT ile tedavi edilebilecek nedenlerin,

3-Bu tekniklerle de tedavi edilemeyen ve donör inseminasyonu ya da evlat edinmeyi gerektirecek nedenlerin,

4-Altta yatan önemli tıbbi patolojilerin,

5-Hastayı veya çocuğunu etkileyebilecek genetik ve/veya kromozomal bozuklukların belirlenmesine yöneliktir (62).

İnfertilitenin araştırılmasına genel üreme hikayesinin alınarak ve bir ay arayla 2 semen analizi yapılarak başlanır. Üreme hikayesinde

- Cinsel ilişki sıklığı ve zamanlaması,
- İnfertilite süresi ve önceki fertilizasyon durumu,
- Çocukluk hastalıkları,
- Çocukluk ve puberte gelişimi,
- Sistemik hastalıklar ve geçirdiği ameliyatlar,
- Cinsel yaşam,
- Cinsel yolla geçen hastalıklar,
- Gonadal toksinlere maruz kalınımı sorgulanmalıdır (1).

**Tablo 2.1.** İnfertil Erkeğin Sorgulanmasında Öykü

<b>İnfertilite Öyküsü:</b> Süresi Önceki gebelikler Önceki tedaviler Eşin durumu ve aldığı tedaviler Kotrasepsiyon (vazektomi)	<b>Cerrahi Öykü:</b> Orşiyektomi (testis kanseri, torsiyon) Retroperitoneal yaralanma Pelvik yaralanma Pelvik, inguinal, scrotal cerrahi Mesane boynu operasyonları Prostatektomi
<b>Seksüel Öykü:</b> Potans Kayganlaştırıcılar Seksüel ilişki zamanlaması İlişki sıklığı Mastürbasyon sıklığı	<b>Enfeksiyonlar:</b> Viral-Febril Mumps orşiti Veneral Tüberküloz
<b>Çocukluk Çağı:</b> Genitoüriner anomaliler İnmemiş testis ve orşiopeksi Herniorrafi Mesane boynu Y-V plasti Testiküler torsiyon Testiküler travma Puberte başlangıcı	<b>Gonadotoksinler:</b> Kimyasallar (Pestisitler) İlaçlar Termal Radyasyon Sigara Keyif vericiler
<b>Tıbbi Öykü:</b> Sistemik hastalıklar Diyabet Multiple skleroz Hipo-Hipertiroid Tedaviler	<b>Aile Öyküsü:</b> Kistik fibrozis Androjen reseptör eksikliği Birinci derece yakınlarda kısırlık  <b>Sistemlerin Gözden Geçirilmesi:</b> Solunum yolu enfeksiyonları Anosmi Galaktore Görme alanı bozukluğu



**Tablo 2.2.** İnfertil Erkeğin Sorgulanmasında Fizik Muayene

<b>Genel Vücut İncelemesi</b> Vücut kıllarında azalma Jinekomasti Eukoid oranlar	<b>Skrotum:</b> Testis hacmi Epididim Vaz Deferens Varikosel Hemi-spermatosel-hidrosel
<b>Penis</b> Peyroni Konjenital penil krvatür Hipospadias Epispadias Mikropenis	<b>Parmakla Rektal İnceleme</b> Prostat büyüklüğü Prostat/Seminal kese kitleleri ve endurasyonu Bulbokavernöz refleks

Eğer erkekte temel değerlendirme sırasında üreme öyküsünde şüpheli bir durum veya semen analizinde bir bozukluk saptanırsa ileri araştırma yapılmalıdır. Açıklanamayan infertilite olgularında ya da kadının tedavi edilmesine rağmen devam eden infertilite durumunda da erkeğin ayrıntılı araştırılması gerekir.

İleri araştırmada tam detaylı medikal ve üreme hikayesi alınır, fizik muayene ile birlikte bir aydan az olmayan aralıklarla en az iki semen analizi yapılır. Bunları takiben, spesifik problemleri ya da hikaye, fizik muayene veya semen analizi sırasında kaydedilen sorunları araştırmaya yönelik diğer ek testler de istenmelidir (1).

İnfertil erkeğin fizik incelemesi tüm sistemleri kapsamaktadır. Hastanın vücut yapısı ve virilizasyonu incelenir. Sekonder seks karakterlerinin gelişimine bakılır, jinekomasti araştırılır. Genital muayenede peniste kurvatür varlığı ve üretral meatusun yeri incelenir. Testis boyutları ölçülür. Normal erişkin testis volümü  $24\pm 4$  ml'dir. Testis volümünün düşük olması seminifer tübül sayısının da az olması anlamına gelecektir. Epididim muayenesinde endürasyonlar, düzensizlikler ve kistik oluşumlar muayene ile saptanabilir. Spermatik kord ayakta muayene edilerek varikosel araştırılmalıdır. Klinik bulgusu olmayan hastalarda varikosel araştırmak için radyolojik görüntüleme gerekmez (64).

### 2.5.1. Semen Analizi

Hikaye ve fizik muayeneden sonra, erkeğe ait laboratuvar testleri yapılmalıdır. Her hastanın iki ay aralıklarla yapılan, en az iki ya da üç semen analizi bulunmalıdır. İnfertil erkeğin değerlendirilmesinde semen analizi çok önemli bir yer tutar. Azoospermi dışında semen analizi, hastaların steril ve fertil gruplar şeklinde kesin ayırımının yapılmasını sağlamaz. Semen parametrelerinin kalitesi azaldıkça istatistiksel olarak gebelik şansı da azalır ama sıfıra inmez. Buna rağmen doğru şekilde yapılmış bir semen analizi infertil erkeğin değerlendirilmesinde önemli bir araçtır (65).

**Tablo 2.3.** Semen analizinin referans değerleri

Hacim	1.5-5.0 ml.
Sperm aglütinasyonu	<2 (Skala 0-3)
Vizkozite	<3 (Skala 0-4)
pH	>7.2
Konsantrasyon	>20x10 <sup>6</sup> /ml
Total sperm sayısı	>40x10 <sup>6</sup> /ejakülat
İleri-hızlı motilite (a+b)	>%50
Normal morfoloji	>%14

### 2.5.2. Semen toplanması

Semen en az 48 saatlik cinsel perhiz sonrası toplanmalı ve bu süre 7 günü geçmemelidir. Semen laboratuvar yanında özel olarak hazırlanmış bir odada görsel cinsel uyarı ve masturbasyon yöntemi ile toplanmalıdır (66). Aynı hastaya ait farklı semen örneklerinin doğru biçimde karşılaştırılmasının yapılabilmesi için, örnek toplamadan önceki cinsel perhiz süresinin sabit tutulması önem taşır (65). Cinsel perhiz süresince gün başına sperm sayısında %25 artış olur, sperm motilite ve morfolojisinde değişiklik olmaz. Bu süre bir haftayı geçerse motilitede azalma bildirilmiştir. Sperm örneği dışarıdan laboratuvara getirilecekse vücut ısısında ve 1 saat içinde ulaştırılmalıdır (67).

### 2.5.3. Semen makroskopik değerlendirilmesi

Semen toplandığında koagulum halindedir ve 5-25 dakika arasında PSA ve plazminojen aktivatör gibi prostat kökenli proteazlar nedeniyle likefiye olur. Koagulasyondan seminal veziküllerden salgılanan bir madde sorumludur. CBAVD'li hastalarda seminal veziküller ya yoktur ya da hipoplaziktir. Böyle hastalarda semen koagüle olmaz, asidik ve düşük hacimlidir.

Semen örneğinde likefaksiyon bozukluğu var ise bunun, likefaksiyondan sonra hipervizköz kalan semenden ayırt edilmesi gerekir. Likefiye olmamış semen koagulum halinde kalırken, hipervizköz semenin koagulum hali azalır fakat kıvamı normalden daha koyu kalır (65).

Likefaksiyon gelişmemiş hastaların semeninde doku plazminojen aktivatör düzeyleri normal semendekinden daha düşük bulunmuş olmakla birlikte (68), aynı ilişki PSA düzeyleri için geçerli değildir (69). Likefiye olmamış semenin erkte fertilitte üzerine etkisi açık değildir. Semende likefaksiyon yok veya hipervizkozite var ise postkoital testin yapılması önerilmektedir. Bu test sırasında servikal mukusta yeterli sayıda hareketli sperm var ise semenin kıvamının bir önemi yok demektir. Ancak servikal mukus kaliteli olmasına karşın az sayıda sperm var ise genellikle yapılacak olan artifisyel inseminasyondur.  $\alpha$  Amilaz veya semenin ilave ederek likefaksiyonu artırmak mümkündür ancak bu yaklaşımın fertilitteyi artırdığına dair bilgi yoktur (70,71).

Semen volümü WHO' ya göre 2 ml.' nin üzerinde olmalıdır. Bunun altındaki değerlerde retrograt ejakülasyon ve distal kanal patolojileri akla gelmeli ve buna yönelik araştırmalar yapılması gerekmektedir. Seminal sıvının tam yokluğuna aspermi denilmektedir. Bu durum ya retrograt ejakülasyona ya da emisyon olmamasına bağlıdır. Emisyon olmamasının en sık nedeni spinal kord yaralanmasıdır. Diabet ve multipl skleroza bağlı olarak sıklıkla görülmektedir. Retroperitoneal cerrahi ejakülasyonu kontrol eden sempatik ganglionlara zarar vermektedir, ancak bugün sıklıkla uygulanan sinir koruyucu tekniğe bağlı olarak bu komplikasyon azalmıştır. Asperminin diğer bir nedeni de orgazm olunamaması gibi psikolojik bozukluklardır. Ancak düşük ejakülat volümünün en sık nedeni spesmenin doğru toplanamamasıdır. Bu yanılığı ortadan kaldırmak için test tekrarının yapılması önemlidir. Diğer bir sık neden de parsiyel retrograt ejakülasyona bağlıdır.

Bunun nedenleri ise nörolojik bozukluklar, ilaçlar, mesane boynu cerrahisi ve bazı sebebi açıklanamayan durumlardır.

Seminal sıvının büyük çoğunluğunu seminal vezikül salgıları oluşturmaktadır. Parsiyel ve total ejakülatuar kanal tıkanıklıklarında düşük ejakülat volümü görülmektedir. Vazal agenezde seminal vezikül sıklıkla yok olduğu için ejakülat hacmi azdır. Düşük ejakülat volümü durumunda post-ejakülatuar idrar spesmenini 300 g'de 10 dk. santrüfuj ederek pelletde sperm tayini yapılmalıdır. Sperm görülmesi retrograt ejakülasyon tanısı koydurmaktadır (67).

Seminal veziküller semendeki fruktozun kaynağıdır. Normal semende fruktoz konsantrasyonu 120-450 mg/dl'dir. Seminal vezikül inflamasyonlarında, androjen eksikliğinde, parsiyel veya total distal ejakülatuar kanal patolojilerinde seminal fruktoz konsantrasyonu 120 mg/dl'nin altındadır. Düşük volümlü semende fruktoz tayini mutlaka yapılmalıdır. Semen pH'sı 7.2 veya üzerinde olmalıdır. pH, asidik prostat salgıları ve alkalen seminal vezikül salgılarının karışım oranına bağlı olarak değişebilir. Normal pH ile beraber düşük semen volümü normal olabileceği gibi tam olmayan toplama veya retrograt ejakülasyon sonucu da olabilir. Düşük ejakülat volümü ve/veya asidik pH ejakülatuar kanal patolojilerini veya vaz deferens yokluğunu akla getirmelidir (66).

#### **2.5.4. Semen Mikroskopik Değerlendirmesi**

##### **Sperm sayısı**

Fertil popülasyonda bildirilen ortalama sperm sayısı mililitrede 70-100 milyondur. WHO'nun referanslarına göre olması gereken en az sperm sayısı 20 milyon/ml'dir. Bu değer altı oligospermi olarak adlandırılmaktadır. İzole oligospermi nadirdir, çoğu zaman sebebi bilinmez ve bazen androjen eksikliğine bağlı olabilir. Sayı 10 milyon/ml'den az olursa testosteron ve FSH düzeylerinin bakılması önerilmektedir. Sadece FSH yüksekliği spermatogenezdeki sıkıntıyı gösterir ve tam bir endokrinolojik değerlendirmeye gerek yoktur. Oligospermiye neden olabilecek saptanabilir en sık neden varikoseldir, bunda da seminal parametrelerde multipl defekt vardır.

Ejakülatta spermatozoa hücrelerinin hiç görülmemesi azospermi olarak adlandırılır. Azospermi; yetersiz hormonal stimülasyon (hipogonadotropik hipogonadizm), spermatogenez anormallikleri ya da obstrüksiyon nedeniyle meydana

gelebilir. Azoospermik hastanın değerlendirilmesi, azoosperminin spermatogenez eksikliğinden mi yoksa duktal obstrüksiyondan mı kaynaklandığını saptamaya yönelik olmalıdır.

Santrifüj edilmiş semen örneğinde sperm saptanması bilateral duktal obstrüksiyonu ekarte ettirir. Fizik muayenede testisin büyüklüğü ve kıvamı, epididimin dolgunluğu ve vazların varlığı veya yokluğu yol göstericidir. Obstrükte testisler genellikle normalden büyük, epididimler belirgin olmaktadır. Genel bir kaide olmamakla birlikte, testiküler yetmezliği olan hastalarda testisler normalden küçüktür. Hipogonadotropik hipogonadizimli olgularda virilizasyon ve sekonder seks karakterleri azalmıştır, testisler oldukça küçüktür. Bu olgularda serumda LH, PRL ve testosteron düzeyi mutlaka bakılmalıdır (67).

### **Sperm motilitesi**

Motilite kuyruk hareketi gösteren sperm yüzdesidir. Motilitenin değerlendirilmesi likefaksiyondan sonra 1 saat içinde yapılmalıdır. Bu süre içerisinde semen oda sıcaklığında saklanmalıdır. Spermin ileri hareketinin kalitesi değerlendirilerek kaydedilmelidir. Sık kullanılan bir metoda göre sperm hareketleri 5 skalaya ayrılır. 0 hiç motilitenin olmadığını gösterir; 1 ileri progresyon göstermeyen, tembel hareketi; 2 yavaş, doğrusal olmayan, dolambaçlı ileri hareketi; 3 oldukça doğrusal ama orta hızda hareket eden sperm; 4 ise doğrusal ve hızlı hareketi belirtir (72). Spermden en fazla görülen hareket kategorisi değerlendirmeye alınır. Alternatif bir sistem sperm 4 kategoride ele alır: A ileri hızlı hareketi; B yavaş ya da tembel ileri hareketi; C ileri olmayan hareketi ve D hareketin bulunmadığını belirtir. Bu sistemde, her bir kategoriye giren sperm yüzdesi değerlendirmeye alınır.

WHO 'a+b' motilitenin %50'nin, sadece 'a' kalite motilitenin ise %25'in üzerinde olması gerektiğini belirtmiştir (73).

Sperm hareket bozukluğu (astenospermi) motilitede ya da ileri harekette veya her ikisinde birden azalmayı ifade eder. Bu olgularda spermatozoanın yapısal defektlerinden, uzamış cinsel perhiz süresi, genital sistem enfeksiyonları, antisperm antikolar, parsiyel duktal obstrüksiyon, varikosel ve idiyomatik faktörler sorumlu olabilir.

Astenospermi bulgusu ya da şiddetli sperm aglütinasyonu immunolojik infertilite olasılığını akla getirir. Bu durumda antisperm antikor testi yapılmalıdır. Semen

analizinde lökosit sayısı artmışsa enfeksiyondan şüphe edilmelidir ve bu durumda gerekli ileri tetkikler yapılmalıdır. Varikosel, infertil erkeklerde cerrahi olarak düzeltilebilen en sık anomali olup, sperm sayı ve şekil bozukluklarının yanı sıra sperm motilite bozukluğundan da sorumlu olabilir. Astenospermik hastalarda, özellikle ejakülat volümü düşük ve sperm canlılığı azalmış olgularda, parsiyel ejakulatör kanal tıkanıklığı düşünülebilir. Bu hastalarda TRUS yapılabilir. Sperm motilitesinin hiç bulunmadığı ya da motilitenin %5' in altında olduğu olgular sperm canlılık testleri ile değerlendirilmelidir. Motilitenin hiç olmadığı ya da azaldığı durumlarda yüksek fraksiyonda canlı sperm bulunması, immotil silia sendromu ve Kartagener sendromunda olduğu gibi ultrastrüktürel bir anomaliye işaret eder. Spermatozoanın elektronmikroskopik tetkiki böyle olguları ayırt eder. Bazen cinsel perhiz süresinin fazla uzaması da motilitede ciddi azalmayla sonuçlanabilir. Son olarak, sperm toplama kaplarındaki toksik kalıntılar ya da sıcak veya soğuk ortam azalmış motiliteden sorumlu olabilir.

#### **Yuvarlak hücre sayısı**

Semendeki yuvarlak hücreler immatür spermatozoalar, genitoüriner sistem epitel hücreleri, prostatik hücreler ve lökositlerden oluşur. Normal semende yuvarlak hücre sayısı < 5 milyon/ml olmalıdır. Yuvarlak hücrelerden klinik olarak önemli olan lökositlerdir. Yuvarlak hücre sayısı >1 milyon/ml. olduğunda lökosit sayısını değerlendirmek için myeloperoksidaz testi (Endtz testi) yapılmalıdır. Normal semende lökosit sayısı <1 milyon/ml olmalıdır (66).

Artmış yuvarlak hücre sayısı olanların ancak 1/3'ünde gerçekten pyospermi vardır ve semende bakteri bulunan olgularda her zaman pyospermi saptanmamaktadır. Bu nedenle pyospermili birçok hastada genital trakt enfeksiyonu yoktur (67).

Semende lökosit enfeksiyon haricinde, anormal spermatogenez, çevresel faktörler, seks alışkanlıkları ve cinsel perhiz süresi ile ilgili olabilir (66).

#### **Sperm morfolojisi**

Sperm morfolojisi değerlendirmesi, taze semende elektron mikroskop ile, taze semende faz kontrast mikroskop ile ve spermleri çeşitli yöntemlerle boyayarak yapılabilir. Post-koital mukustan ya da zona pellusida yüzeyinden elde edilen spermler normal kabul edilir.

Doğru bir morfolojik değerlendirme için spermin boyanması gereklidir. Bunun için en fazla kullanılan boyama yöntemleri ‘‘Papanicolau’’ yöntemi ve ‘‘Diff-Quick’’ yöntemidir.

Değerlendirmede birçok kriter kullanılmasına karşın en fazla kullanılanlar WHO kriterleri ve Kruger’in kesin kriterleridir (74). Bir spermin normal kabul edilebilmesi için baş, boyun, orta kısım ve kuyruğun normal olması gereklidir. Normal sperm başı, oval, boyu 5-6 $\mu$ , eni 2.5-3.5 $\mu$ , boyunun genişliğine oranı 1.5-1.75 olmalıdır. Baş bölgesinin %40-70’ini kapsayan akrozomal bölge olmalıdır. Orta kısım ince uzun ve genişliği <1 $\mu$ , boyu başın 1.5 katı ve başa aksiel olarak bağlanmış olmalıdır. Sitoplazmik artıklar normal baş alanının yarısından az olmalıdır. Kuyruk düz, orta kısımdan ince ve yaklaşık 45 $\mu$  uzunluğunda olmalıdır. WHO kriterlerine göre ara formlar normal, Kruger’in kesin kriterlerine göre anormal kabul edilir.(Tablo 2.4.)

**Tablo 2.4.** Kruger kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi.

<p><b>Baş</b></p> <p>Uzunluk: 5-6 mikron</p> <p>Genişlik: 2.5-3.5 mikron</p>
<p><b>Akrozom</b></p> <p>Başın % 40-70’ini oluşturmalı</p>
<p><b>Orta parça</b></p> <p>Genişlik 1 mikron</p> <p>Uzunluk 1.5 x baş uzunluğu</p>
<p><b>Kuyruk</b></p> <p>Boyu yaklaşık 45 mikron</p> <p>Uniform</p> <p>Orta parçadan daha ince</p> <p>Kıvrılmamış</p> <p>Kırık içermeyen</p>
<p><b>Sitoplazmik artık</b></p> <p>Baş alanının % 30-70’inden az</p> <p>Sadece orta parçada lokalize</p>

Spermde yaygın görülen defektler :

Baş defektleri: Büyük, küçük, yassı filiform, yuvarlak, amorf, vakuollü, küçük akrozomlu, çift baş ve bunların kombinasyonları.

Boyun ve orta kısım defektleri: Bükük boyun, başa düzensiz bağlanma, kalın boyun, ince boyun ve bunların kombinasyonları.

Kuyruk defektleri: Kısa, birden fazla, ince, kırık, kıvrık, düzensiz genişlikte ve bunların kombinasyonları şeklindedir.

Spermde normal morfolojiye sahip sperm oranı WHO'ya göre  $> \%30$ , Kruger' in kesin kriterlerine göre  $\geq \%14$  olmalıdır (75). Kruger'in kesin kriterleri kullanılarak yapılan çalışmada, sperm konsantrasyonu 20 milyon/ml. üzerinde ve hareket  $\% 30$ 'un üzerinde olan popülasyonda, normal morfolojili sperm oranı  $\% 14$ 'ün üzerinde olanlarda IVF'de  $\% 91$ ,  $\% 14$ 'ün altında olanlarda ise  $\% 37$  oranında fertilizasyon saptanmıştır. Bir başka çalışmada ise  $\% 4$ 'ün altında  $\% 7.6$ ,  $\% 4-14$  arasında  $\% 63$  fertilizasyon oranları bildirilmiştir (76).

Rutin semen analizlerinde genelde bakılmayan fakat klinik olarak kullanılabilen çoğul sperm defekti indeksleri de vardır. Teratospermik indeks (multipl anomali indeksi) (TZI) defekt sayısının, defekli sperm sayısına bölünmesi ile elde edilir. TZI  $> 1.6$  ise gebelik şansı düşüktür. Defekt sayısının toplam sperm sayısına bölünmesi ile de sperm deformite indeksi (SDI) hesaplanır. SDI  $> 1.6$  ise fertilizasyon oranı düşmektedir (75).

Özellikle amorf ve baş anomalisi taşıyan spermlerin yapısal kromozom anomali sıklığı da artmaktadır. Böyle olgularda sperme ait kromozom anomalilerinin fertilizasyon bozukluğundan sorumlu olabileceği düşünülmektedir.

Normal sperm değerleri, gebeliği sağlamak için gerekli olan minimum değerler değildir. Bu değerlerin dışında da olursa erkek fertil olabilir. Aksine sperm parametreleri normal sınırlar içinde bulunan erkeklerde infertil olabilirler (77).

### 2.5.5. Endokrin İnceleme

Erkek istenecek temel hormonlar serum FSH, testosteron ve östradiol'dür (78). Testosteron düşük bulunursa total ve serbest testosteron ölçümlerinin tekrarı yanı sıra LH ve prolaktine de bakılmalıdır. Spermatogenezi bozuk olan erkeklerin çoğunda serum FSH değerleri normal bulunmakla birlikte, FSH aşırı yükselmiş ise büyük olasılıkla spermatogenez bozukluğuna işaret eder. Her ne kadar serum



gonadotropin düzeyleri pulsatil salınımlarından dolayı değişkenlik göstermekteyse de, olgunun endokrinolojik yönden klinik durumunu aydınlatmada sabah tek ölçümleri yeterli olabilir. Testosteron, FSH, LH ve prolaktin arasındaki ilişki klinik durum hakkında bilgi verir (79).

**Tablo 2.5.** Serum hormonları ile erkekte klinik bulgular arasındaki ilişki

Klinik durum	FSH	LH	T	Prolaktin
Normal spermatogenez	Normal	Normal	Normal	Normal
Hipogonadotropik Hipogonadizm	Düşük	Düşük	Düşük	Normal
Spermatogenez Bozukluğu*	Yüksek/Normal	Normal	Normal	Normal
Total testiküler yetmezlik /Hipergonadotropik hipogonadizm	Yüksek	Yüksek	Normal/Düşük	Normal
Prolaktin salgılayan hipofiz tümörü	Normal/Düşük	Normal/Düşük	Düşük	Yüksek

\* Spermatogenezi bozuk erkeklerin çoğunda serum FSH normal bulunmakla birlikte, FSH aşırı yükselmiş ise büyük olasılıkla spermatogenez bozukluğuna işaret eder.

Özellikle sperm sayısının düştüğü (<10 milyon/ml) veya morfoloji bozukluğu görülen sperm analizi bozukluklarında, cinsel fonksiyon bozukluğu olan ya da spesifik bir endokrinopatiye işaret eden hastalığın varlığı durumlarında hormonal inceleme gereklidir. Sperm analizi normal olan erkeklerde endokrinolojik bir bozukluk çok nadir görülür. Bazı araştırmacılar infertil erkeklerin tetkikinde endokrin değerlendirmenin rutin olarak yapılmasını önermekteyseler de bu konuda fikir birliği yoktur (79).

### 2.5.6. Ejakülasyon Sonrası İdrarda Sperm Aranması

Bilateral vaz deferens agenezisi ya da klinik olarak hipogonadizm belirtileri bulunmayan erkeklerde, ejakülat volümü <1 ml. ise ejakülasyon sonrası idrarda sperm aranmalıdır. Azospermik veya aspermik bir hastada ejakülasyon sonrası idrarda sperme rastlanması, retrograt ejakülasyona işaret eder. Ejakülat volümünde düşüklük ya da aspermiye, retrograt ejakülasyon dışında emisyon yokluğu, ejakülatuar kanal tıkanıklığı, hipogonadizm ve bilateral vaz deferens agenezi olgularında da rastlanır.

Ejakülasyon sonrası idrarda sperm aranması için, idrar örneği santrifüj edilerek, pellet mikroskop altında incelenir. İnceleme sonucunda en az bir sperm görülmesi retrograt ejakülasyona işaret eder (79).

### 2.5.7. Radyolojik Değerlendirme

Radyolojik değerlendirmenin amacı parsiyel veya total duktal obstrüksiyonu saptamaktır. Ancak parsiyel duktal obstrüksiyonu infertilitenin diğer nedenlerinden, özellikle sebebi bilinmeyen oligospermiden ayırt etmek çok zordur.

**Vazografi:** Testis biopsisi ile spermatogenezi ispatlanmış azospermik olgularda obstrüksiyonun yerini saptamak için kullanılmaktadır.

**Transrektal Ultrasonografi:** Vaz deferensleri palpe edilen ve ejakülat volümü azalmış azospermik erkeklerde ejakülatör kanal tıkanıklığını araştırmak amacıyla TRUS uygulanır. Normalde seminal veziküllerin ön-arka çapı <1.5 cm.'dir. TRUS sırasında seminal veziküllerde, ejakülatör kanallarda dilatasyon ve/veya prostat içinde orta hat kisti saptanması parsiyel ya da komplet ejakülatör kanal tıkanıklığı için kesin olmasa da, olası bir tanı koydurur (80). Total ejakülatör kanal tıkanıklığı olan erkekler düşük hacimli, fruktoz negatif, asit pH'lı, azospermik ejakülat çıkarırlar. CBAVD'li olgular da sıklıkla seminal vezikül agenezisine ya da atrofisine sahip olduklarından, aynı bulguları gösterebilir. Düşük ejakülat hacimli, oligospermik erkeklerde ve spermin ileri motilitesi bozulmuş bazı erkelerde parsiyel ejakülatör kanal darlığı bulunabilir. Bu nedenle, düşük ejakülat hacimli, vaz deferensleri palpe edilebilen ve normal testis volümü bulunan oligospermik erkeklerde de parsiyel ejakülatör kanal darlığı düşünülerek TRUS istenebilir (81).

**Skrotal Ultrasonografi:** Varikosel, spermatosel, vaz deferens yokluğu, epididimlerde sertlik ve testiküler kitle gibi skrotal patolojilerin çoğu fizik muayene

sırasında anlaşılabilir. Testislerin yukarı pozisyonda lokalize olduğu ya da küçük skrotumu bulunan ve fizik muayene bulgularının şüphede bıraktığı durumlar ile, skrotum ve spermatik kordonun muayenesini engelleyen hidrosel ya da diğer anatomik anormallik durumlarında da skrotal ultrasonografi yapılması gerekir. Skrotal ultrasonografi testiste kitle bulunan olgularda da endikedir. Her ne kadar muayene ile saptanamayan varikoseller skrotal renkli Doppler ultrasonografi ile tanınabilirse de bunların klinik önemi tartışmalıdır(81).

### **2.5.8. Sperm ve Semene Ait Spesifik Testler**

Erkek infertilitesinin standart araştırmasında sperme ait spesifik testlerin yapılması gerekmez. Ancak sperm analizi de her zaman erkeğin fertilitate potansiyelini tam olarak yansıtmayabilir. Bu durumlarda tanı koyabilmek için diğer spesifik testlere gerksinim vardır. Açıklanamayan infertilite olgularında erkek faktörünün de eşlik edip etmediğini ortaya koymak için, ya da ÜYT ile tedavi seçimi yapılmasında sperm ve semene ait spesifik testler yararlı olabilir. Bu testler arasında; antisperm antikor tayini, sperm vitalite testleri, sperm-servikal mukus etkileşim testleri, sperm penetrasyon testi, akrozom reaksiyonu, hemizona testi, sperm kreatin kinaz ölçümü, ROS tayini, sperm yüzeyinde mannoz reseptör tayini gibi nadiren gereken testler bulunur. Eğer tedavinin yönlendirilmesinde faydalı olacaksa bu testlerin yapılması önerilir (81).

### **2.5.9. Testis Biyopsisi**

Testiste sperm üretiminin varlığını göstermek amacıyla, perkütan testis biyopsileri uzun süre rutin olarak kullanılmıştır. Ayrıca obstrüktif azospermi olgularında da sperm elde edilmesi amacıyla biyopsi uygulamaları yapılmıştır. Bununla birlikte özellikle son yıllarda mikrocerrahi konusunda sağlanan gelişmelerin ardından, testisten mikrodiseksiyon yöntemi ile sperm elde edilmesi ve elde edilen bu hücrelerin mikroenjeksiyonda kullanılması gündeme gelmiştir. Mikrocerrahi yöntemlerin kullanılması ile elde edilen canlı sperm hücre yoğunluğu, klasik perkütan yöntemlerle elde edilen sayıdan çok daha fazladır (82). Bundan dolayı klasik yöntemin tanı amacıyla kullanılması günümüzde oldukça azalmıştır.

Testis biopsisinin histopatolojik değerlendirmesinde Levin'in tanımlamaları esas alınmaktadır (83).

**Normal spermatogenez:** Normal testis yapısı gözlenir. Kanser veya karsinoma in situ bulgusu yoktur. Bütün seminifer tübül kesitlerinde spermatogenez aktivitesi izlenir. Bazı klinisyenlere göre tübül başına >20 spermatid sayılması kantitatif olarak normal kabul edilir.

**Matürasyon duraklaması (arrest):** Sperm hücresi matürasyonu, birçok basamakta duraksamaya maruz kalabilir ve arrest paternleri oluşur. Erken evrelerde mayoz bölünmeyle, geç evrelerde spermiogenez regülasyonu ile ilgili bir sorun olabilir.

**Hipospematogenez:** bu paternde, tüm germ hücreleri bulunur ancak sayısal olarak azdır. Bunun sonucunda ejakülatta az sayıda sperm bulunabilir.

**Germ hücresi yokluğu veya aplazisi:** Germ hücrelerine hiç rastlanılmayan bu durum “Sertoli Cell Only” sendromu olarak da adlandırılır.

**Diğer patternler:** Seminifer tübüllerin skar ya da sklerotik dokuyla tamamen veya kısmen yer değiştirmesi ile karakterizedir (84).

### 2.5.10. Genetik Araştırma

Erkek infertillitesi ile ilişkili olarak üç genetik faktör bilinmektedir.

1. Konjenital vaz agenezi nedeni olan kistik fibrozis gen mutasyonları
2. Testis fonksiyonlarını bozan kromozom anomalileri
3. İzole spermatogenez defekti yapabilen Y kromozom mikrolelesyonları (85)

Azoospermik erkeklerin %10-15’inde, oligozoospermik erkeklerin %5’inde, normal erkeklerin ise % 1’inden azında karyotip anomalisi bulunur (86). İnfertilite nedeni ile tetkik edilen erkekler arasında en sık rastlanılan karyotip anomalisi Klinefelter sendromudur.

Y-kromozom mikrolelesyonuna azoospermik veya şiddetli oligozoospermik erkeklerin %10-15’inde rastlanır (87). TESE yapılacak olgularda daha önceden Y-kromozomundaki delesyona uğramış bölgenin tespit edilmesinin, TESE sırasında hücre bulma şansını tahmin etmede prognostik öneme sahip olduğu ortaya konmuştur. AZFc bölgesini de içine alan kombine delesyonlarda (AZFb+c, AZFa+b+c) testiküler spermatozoaların total yokluğu söz konusudur. AZFb delesyonlarının prognozu ise oldukça kötüdür. AZFb bölgesinin total yokluğunda,

TESE ile hücre elde etme oranı sıfıra yakındır. Tek başına AZFc delesyonlarında ise % 50 olguda matür spermatozoa bulunmaktadır (85).

Bu nedenle, nonobstrüktif azospermisi ya da şiddetli oligozoospermisi bulunan erkeklerin, kromozom anomilisi veya Y-kromozomu mikrodelesyonu taşıyabilecekleri konusunda bilgilendirilmeleri gerekir. Böyle erkeklerden spermleri ICSI'de kullanılmadan önce karyotip analizi ve Y-kromozom mikrodelesyonu testleri istenmelidir. Erkek ya da kadında genetik bir bozukluktan şüphelenilirse, genetik danışma verilmelidir (81).

Görüldüğü gibi, erkek infertilitesi, etyolojisinde genetik faktörlerin de yer aldığı kompleks bir hastalıktır. Erkek infertilitesi olgularının büyük oranda idiopatik olarak adlandırılması, spermatogenez ve sperm fonksiyonlarının temel mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi ve etyolojinin bu nedenle karanlık kalması sebebiyledir. Genetik infertilite olgularında spermatogenik bozukluğun altında yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Yapılacak geniş tabanlı assosiasyon çalışmaları, testiküler ve spermatozoal ekspresyon çalışmaları, spermatogenezin moleküler mekanizmalarını aydınlatarak, gelecekte bu konudaki tanı ve tedavinin doğru yönlendirilmesini sağlayacaktır (2).

## **2.6. İnfertilite Tedavisi**

Evli çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen infertilitede olguların %25'inde belirli bir neden bulunmamaktadır. İnfertil erkeklerin tedavisinde farmakolojik yaklaşımlarla spermatogenez kalitesinin iyileştirilmesi amaçlanırken, cerrahi olarak ürolojik sorunlar ortadan kaldırılır. Hastaların büyük kısmında başlangıçta spesifik bozukluklar düzeltilerek ya da ampirik yöntemler kullanılarak semen kalitesinin iyileştirilmesi düşüncesiyle tedaviye başlanılmaktadır. Ancak, farmakolojik bir tedavi planlanıyorsa bunun en az bir spermatogenez siklusu içine alacak şekilde 3 ay veya daha fazla süreyle kullanılması gerektiği unutulmamalıdır (88).

### **2.6.1. Erkek İnfertilitesinde Medikal Tedavi**

Erkek infertilitesinde medikal tedavi nedene yönelik (spesifik) ve ampirik olarak uygulanabilir (89).

### **Spesifik tedavi**

Endokrin bozukluklar, lökospermi, immunolojik infertilite, gonadotoksinlere maruziyet gibi durumlarda, bozukluğa yönelik medikal tedaviler uygulanır (89).

### **Endokrin bozukluklar**

**Hipogonadotropik hipogonadizm:** Gonadotropin yetmezliğinde normal spermatogenezin başlatılması dışarıdan gonadotropik hormon veya gonadotropin releasing hormon verilmesiyle mümkün olabilir. Human koryonik gonadotropin (hCG) LH aktivitesine, Human menopozal gonadotropin ise (hMG) ise hem FSH hem de LH aktivitesine sahiptir. Spermatogenezin başlaması ilk 3-6 ay içerisinde görülürse de, bu süre 20 ay veya daha uzun da sürebilir. Sperm sayısı genellikle 10 milyonun üzerine çıkmaz. Birçok hastada sperm sayısı az olmasına rağmen gebelik sağlanabilmektedir. Spontan gebelik sağlanamayan olgularda sperm parametreleri göz önünde bulundurularak yardımcı üreme teknikleri uygulanır (88,90).

Leydig hücre yetmezliğine bağlı primer hipogonadizm nadir görülen bir infertilite nedenidir. Serum testosteronunun normal düzeylere çıkarılabilmesi için testosteron replasmanı yapılır. Libido ve seksüel fonksiyonlarda düzelme de görülebilir, ancak bu olgularda testosteron replasmanının spermatogenez katkısı yoktur (88).

**Hiperprolaktinemi:** Hiperprolaktinemide spermatogenez inhibe olur. Posterior hipofizden aşırı prolaktin salgılanması infertilite ve seksüel fonksiyon bozukluklarına yol açabilir. Hiperprolaktinemili infertil hastalarda prolaktin inhibitörleriyle tedaviden olumlu sonuçlar alınmakta ve olgular fertil hale gelmektedir (88).

**Konjenital adrenal hiperplaziler:** Kortizol mekanizmasında enzimatik defekt sonucu böbreküstü bezlerinde üretilen aşırı miktardaki androjenler testiküler gelişimi engellemektedir. Puberte prekoks gelişir. Tanı kan ve idrar tetkikleri ile konur. Kortikosteroid tedavisi ile spermatogenez sağlanabilir (91).

**Tiroid fonksiyon bozuklukları:** Hipertiroidizm de spermatogenez üzerine etkilidir, % 0.6 oranında erkekte infertiliteye neden olabilir. Tiroksin replasman tedavisi genellikle fertilitenin tekrar kazanılması ile sonuçlanır (88,89,91).

### **Lökospermi**

Erkek infertil hastaların %10-20'sinde lökospermi vardır. Genital sistem infeksiyonuna ait semptomu olan olguların değerlendirilmesi ve tedavi edilmesi gerekmektedir (89).

### **İmmunolojik infertilite**

Antisperm antikorlar erkek infertilitesinin %3-7'sinde immunolojik infertilite nedeni olarak görülürler. Sperm immünizasyonu gelişen infertil erkeklerin çoğunda sperm analizi normal olmasına karşın, spontan sperm aglütinasyonu ve motilite azlığı gibi durumlarda antisperm antikorların varlığı akla gelmelidir (89).

İmmunolojik infertilitenin tedavisinde en çok başvurulan yöntem düşük doz sistemik kortikosteroidlerle yapılan immünsüpresyondur. Mekanizma tam olarak anlaşılmasa da steroidlerin inflamatuvar hücrelerin kemotaksisini engellediği sitokinler veya lenfosit büyüme faktörü salınımını önlediği, antikor üretimini azalttığı ve antijen-antikor birleşmesini bloke ettiği bilinmektedir. Kortikosteroid tedavisi ile gebelik görülme oranları % 6-50 arasında değişmektedir (88).

İmmunolojik infertilite tedavisinde kortikosteroidlere alternatif olarak siklosporin kullanılabilir. Altı ay süreli kullanımlarında başarılı sonuçlar alındığı görülmüştür (88).

Sperm yıkama yöntemleri kullanılarak sperm yüzeyinde ve seminal plazmada bulunan antisperm antikorlar uzaklaştırılabilir. Ancak, sperm sadece dilüe edilerek yıkanması spermatozoa üzerine yapışık antikorları tamamen uzaklaştırmaz. Son zamanlarda IgA1 proteaz enzimi kullanılarak IgA grubu antisperm antikorları sperm yüzeyinden ayırmak mümkün olmuştur. Bu yöntem ve yardımcı üreme tekniklerinin birlikte kullanılması immunolojik infertilite tedavisinde ümit vermektedir (88,92).

### **Gonadotoksinler**

Endüstriyel toksinlerin erkekte fertilitiyi azalttığı düşünülmektedir. Toksisitenin mekanizmasının germinal epitele direkt etki yoluyla olduğu gösterilmiştir. Değişik mesleklere özgü spesifik gonadotoksinler tanımlanmıştır. Bunlar değişik pestisitler, organofosfatlar, organoklorinler, karbamatlar, fumigantlar, herbisitler ve fungusitlerdir. Tedavi stratejisi bu etkenlerden uzak kalma ya da korunmadır. Erkek infertilitesinde endüstriyel ve tarımsal gonadotoksinlere maruz kalımın en aza indirilmesiyle infertilite riski azaltılabilir (89).

### **Ampirik tedavi**

Belirgin patolojinin saptanmadığı oligozoospermi ve açıklanamayan infertilite varlığında, çok sık kullanılmamakla ve ayrıca sonuçları tartışmalı olmakla birlikte kullanılan çeşitli ampirik tedavi yöntemleri mevcuttur. Bu grupta hormonal ve non-hormonal tedaviler uygulanmaktadır (89).

### **Antiöstrojenler**

**Klomifen sitrat:** Sentetik, steroid olmayan bir antiöstrojendir. Hipotalamus ve hipofizdeki östrojen reseptörlerine bağlanarak feed back inhibisyonu önler. GnRH, FSH ve LH sekresyonları yükselir. Bunların leydig hücrelerinden testosteron salgısını artırarak ya da FSH yoluyla sertoli hücrelerini uyararak spermatogenezi düzeltmesi beklenir (93,94).

Olguların % 4-89'unda sperm konsantrasyonlarında düzelme , % 0-70'inde ise motilitede düzelme bildirilmiştir. Buna bağlı olarak gebelik oranlarında % 0-90 arasında değişmektedir. WHO'nun yaptığı bir değerlendirmede seminal parametrelerde ve gebelik oranlarında anlamlı bir düzelme bulunmamıştır (88).

**Tamoksifen:** Klomifen sitrattan daha az etkiye sahip bir antiöstrojendir. Etki mekanizması klomifen sitrata benzer. Serumda östrojene duyarlı bağlayıcı protein konsantrasyonunda artış yapmaz. Sperm konsantrasyonunda % 0-100 arasında artış bildirilirken, gebelik sıklığı genelde % 11-40 olmaktadır. Motilite üzerine fazla bir etkisi bulunmaz (88).

### **Androjenler**

Yüksek doz testosteron gonadotropin sekresyonunu baskılar, intratestiküler testosteron üretimini durdurur ve spermatogenezi bozar. Bu tedavi yaklaşık 5 ay içerisinde azoospermi geliştirebilir. Tedavinin birden bırakılmasıyla spermatogenezin 4 ay içerisinde tekrar başlaması ve sperm sayısının artması amaçlanır (93-95). Wang ve arkadaşlarının yaptığı plasebo kontrollü çalışmada semen parametrelerinde düzelme olmadığı ve gebelik oranlarının kontrol grubu ile aynı olduğu görülmüştür (96). Günümüzde testosteron rebound tedavisi erkek infertilitesinin ampirik medikal tedavi seçenekleri arasında yer almamaktadır.

### **Gonadotropinler**

Hipogonadotropik hipogonadizmde hormonal tedavi ile başarılı sonuçların alınması normogonadotropik oligozoospermi olgularında gonadotropinlerin



kullanımını gündeme getirmiştir (93). Burada amaç testislerde testosteron yapımını artırarak spermatogenezi uyarmak ya da bilinmeyen bazı mekanizmalarla germinal epitel üzerine etkide bulunulmasını sağlamaktır. Çok sayıdaki çalışmalara göre; tek başına hCG kullanılarak sperm konsantrasyonunda ortalama % 17-35, motilitesinde ise % 22-94 düzelme elde edilmektedir. Gebelik oranları ise % 6-47 arasındadır. hCG ile birlikte hMG de eklendiğinde sperm konsantrasyonundaki artış % 50'ye çıkabilmektedir. Bununla birlikte geniş serilerde kombine tedavi ile seminal parametrelerde, serum gonadotropinleri ile serum testosteron düzeylerinde plasebodan farklı sonuçların elde edilemediği de bildirilmektedir. Ampirik gonadotropin tedavisi ekonomik profili ve sonuçlarının çok iyi olmaması nedeniyle ancak seçilmiş bir grup hastada kullanılabilir (88).

Ciddi seminal parametre bozukluğu gösteren ya da daha önce IVF uygulamalarında başarısız kalınmış olgularda pür FSH kullanılması ile fertilizasyon oranlarında artış gözlemlenmiştir. Burada seminal parametrelerde düzelme gözlenmemekle birlikte kalitatif bir etki söz konusudur. Bu şekilde yardımcı üreme tekniklerinde başarıyı artırmak ya da spontan gebelik şansını yükseltmek amacıyla pür FSH kullanımı tavsiye edilmektedir (97).

#### **Gonadotropin releasing hormon**

Alternatif bir tedavi yöntemi sentetik GnRH analogları kullanarak hipofizer gonadotropin salınımını artırmaktır. Normalde GnRH 90 dakika aralıklarla salgılanır ve 4-9 dakika gibi kısa bir yarı ömrü vardır. Bu nedenle taşınabilir infüzyon pompası ile aralıklı hormon verilmesi normal GnRH salgılanmasını en iyi taklit eden sistem olmuştur. 90-120 dakika aralıklarla 5µg GnRH'un subkutan olarak 12-24 hafta boyunca kullanılması önerilir. Bu yöntemle alınan sonuçlar çelişkilidir. Uygun doz ve salınım sıklığı atarlanabildiğinde yeterli cevap alınması mümkün olabilir (88).

#### **Aromataz inhibitörleri**

Aromataz, testosteronun periferde östradiole çevrilmesini sağlayan bir enzimdir. Östrojenlerin spermatogenez üzerine olumsuz etkileri vardır. Östrojen seviyesinin düşürülmesi veya testosteron östrojen dengesindeki bozuklukların düzeltilmesi ile idiyopatik oligozoosperminin düzelebileceği düşünülerek aromataz inhibitörleri denenmiştir. Plasebodan farklı sonuçlar alınamayan çalışmaların yanı

sıra, % 33'lük gebelik oranları da gözlemlenmiştir. Sperm motilitesi ve semen volümü üzerine belirgin etkisi bulunmamaktadır (88,98).

### **Diğer ilaçlar**

**Kallikrein:** Kallikrein, kininojenin bradikinin ve kallidine dönüşümünü sağlayan polipeptid yapıda bir enzimdir. Koagülasyon ve fibrinolizis sisteminde rol oynayan bradikinin ve kallidin lokal inflamatuvar cevaptan da sorumludur. Aynı zamanda spermatogenezde rol oynayan bradikinin ve kallidin spermin servikal mukusa penetrasyon ve migrasyonunu artırır. Kininlerin ayrıca vasküler permeabiliteyi artırıcı, glukoz taşınmasını kolaylaştırıcı, düz kas kasıcı ve testislere kan akımını artırıcı özellikleri de ortaya konmuştur (99-102). Kallikrein'in esas kaynağı pankreas olmakla birlikte, kallikrein kinin sisteminin komponentleri kadın ve erkek üreme sistemi sekresyonunda da bulunmaktadır. Yan etkileri oldukça az olan kallikrein, prostat ve epididimin inflamatuvar hastalıklarında kinin serbestlenmesine bağlı alevlenmeler yapabilmektedir (101-103).

İnfertilite tedavisinde kallikrein kullanımına ait farklı sonuçlar bildirilmekle birlikte, sperm parametrelerinde düzelme ve gebelik oranlarında artma olduğu görülmektedir (104).

**Prostoglandin sentez inhibitörleri:** Prostogalandinlerin spermatogenez, steroidogenez ve sperm motilitesi üzerine bozucu etkileri vardır. PgE ve PgF seminal veziküllerde ve seminal plazmada yüksek konsantrasyonda bulunur. Nonsteroid antienflamatuvar ilaçların seminal prostogalandinleri düşürdükleri gösterildikten sonra indometazin ve ketoprofen oligospermik erkeklerde kullanılmaktadır (105-107). Sperm sayısını %25, sperm motilitesini %35 oranında artırdığı bildirilmektedir. İndometazin veya ketoprofen 3-6 ay süre ile kullanılır (99,108,109).

**Pentoksifilin:** Erkek infertilitesinde testis ve epididimiste mikrosirkülasyonu düzenleyici etkisinden faydalanmak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca, fosfodiesteraz inhibisyonu da yaptığından hücre içi cAMP düzeyi yükselir (93,99,103,110). Sonuçta hücrede glikoliz ve endojen ATP yapımı artar. Bunun da sperm motilitesini artırması beklenir. Sonuçlar çelişkilidir. İnvitro kullanımda sperm yıkama solüsyonlarına pentoksifilin eklenmesi ile normozoospermik ve oligozoospermik olgularda sperm aktivasyonunda artış gözlenir. Pentoksifilinin akrozom reaksiyonunu uyardığı ve reaktif oksijen radikallerinin yapımını azalttığı

ortaya konmuştur. Ancak embriyogenez üzerine zararlı etkilerinden dolayı inseminasyon öncesi spermin yıkanarak temizlenmesi gerekir (88).

**Antioksidanlar:** İdiopatik infertilite bulunan hastaların bir kısmında, semende reaktif oksijen radikallerinde artış gösterilmiştir. Buna paralel olarak sperm-oosit füzyonunda bozulama ortaya çıkmaktadır. Klinikte bazı ilaçların reaktif oksijen radikallerinin etkisini elimine ettiği gösterilmiş ve infertilite tedavisinde kullanılmaya başlanılmıştır. E vitamini antioksidan etkisinden faydalanılarak invitro kullanımında sperm-oosit füzyonunu düzelttiği gösterilmiştir. Ama oral kullanımında seminal plazma parametrelerinde sabit bir düzelme elde edilememiştir. Glutathione, lipid peroksidasyonunu önleyen bir antioksidandır ve özellikle astenospermide tavsiye edilmektedir (88).

### 2.6.2. Erkek İnfertilitesinde Cerrahi Tedavi

İnfertilitenin cerrahi tedavisi; varikozel, inmemiş testis gibi sorunların ameliyatla düzeltilmesi yanında vazo-vazostomi, vazo-epididimostomi ve ejakülatuar kanallara yapılan cerrahi girişimleri kapsar.

#### Varikozel tedavisi

Erkek infertilite tedavisinde varikoselektomi en çok uygulanan cerrahi metoddur (111). Varikozel ameliyatından sonra hasta başka bir tedavi yöntemi uygulanmaksızın en az 6 ay süreyle 3 ayda bir spermioqram yapılarak izlenmelidir. Spermioqramdaki düzelmeler bazen bir yıla kadar uzamaktadır. Genellikle varikozel cerrahisinden sonra ilk 12 ay içinde spermioqram parametrelerindeki düzelme oranı % 30-90, gebelik oranı % 10-55 arasında değişmektedir. Ameliyat ile gebelik oluşumu arasında geçen süre 6-12 ay olarak kabul edilmektedir (88).

#### Obstrüktif infertilite tedavisi

İnfertilite nedeniyle polikliniğe başvuran hastaların % 3.5'i obstrüktif infertilite vakalarıdır. Bu olguların % 85'inde olay epididimdedir. Obstrüksiyon saptanan olgularda yapılacak tedavi yöntemleri vazo-vazostomi, vazo-epididimostomi, vezikula seminalis kist aspirasyonu ve ejakülatör kanallara yapılan girişimler olarak sayılabilir (88).

**Vazo-vazostomi:** Duktus deferenste obstrüksiyon olduğunda bunun proksimalinde kalan tübüler yapılarda genişleme meydana gelir. Eksplorasyon sırasında epididim tübülüsündeki genişlemelerin görülmesi obstrüksiyonu gösteren

önemli bir bulgudur. Vazo-vazostomi duktus deferensin kısa tıkanmalarında yapılan kısa bir girişimdir (88).

**Vazo-epididimostomi:** Makroskopik vazoepididimostomiden sonra elde edilen anatomik başarı %50, gebelik oranı ise en fazla %30 civarındadır. Yayımlanan mikroskopik vazo-epididimostomi sonuçlarına göre hastaların %75.3'ünde hücre görülmüş, %29 oranında gebelik elde edilmiştir (88).

**Ejakülatör kanallara yapılan girişimler:** Ejakülatör kanallar ya doğmalık olarak kapalıdır, ya da edinsel olarak tıkanabilir. Edinsel olarak tıkanmalar enfeksiyon, iatrojenik, travmatik, taş, kist ya da veziküla seminalis kistlerinin baskısı ile olabilir. Hastalarda perineal ağrı, hemospermi ya da epididimit olabilir. Ejakülatör kanal tıkanıklarının tedavisi transüretal kanal ağzlarının rezeksiyonudur. (TUR-ED) Alternatif diğer bir yaklaşım şekli transüretal balon dilatasyondur. Uzun dönem takipler balon dilatasyon öncesi TUR-ED uygulamasının daha faydalı olduğunu göstermektedir. Genel olarak bakıldığında ejakülatör kanal tıkanıklığı saptanan hastalarda cerrahi tedavi ile semen parametrelerinde düzelme oranı %49, gebelik oluşma oranı ise %25'dir(88).

## 2.7. Üremeye Yardımcı Teknikler

İnfertilite sebebiyle başvuran çiftlerin ilk arzusu fizyolojik yoldan çocuk sahibi olabilmektir. Erkeklerde tedaviyi takiben fizyolojik yoldan eşlerinde gebeliğin sağlanabileceği birçok düzeltilebilir faktör bulunmaktadır. Buna rağmen olguların önemli bir kısmında fizyolojik yollardan gebelik sağlanamamaktadır. Böyle durumlarda üremeye yardımcı tekniklerin (ÜYT) kullanılması gerekmektedir. ÜYT'in kullanılması ile infertilite olgularında sorun büyük oranda çözümlenebilmektedir.

Günümüzde 3 çeşit ÜYT uygulaması yapılmaktadır. IUI, IVF ve ICSI.

**İntrauterin İnseminasyon (IUI);** kısaca, spermin yıkanarak iyi motilite ve morfolojideki spermatozoanın konsantre halde uterus içerisine bir kanül vasıtasıyla verilmesidir.

**İnvitro Fertilizasyon (IVF);** kadından toplanan oositlerin (OPU: oocyt pick up) bir petri kutusu içerisinde spermatozoa ile 24-48 saat inkübe edilmesi, arkasından oluşan embriyoların uterus kavitesine transferini içerir.

**İntrasitoplazmik Sperm İnjesiyonu (ICSI);** tek bir spermatozoanın oosit sitoplazması içerisine mikroskop altında mikroenjesiyonudur.

IUI için ileri motil en az 5 milyon spermatozoa gerekmektedirken, ICSI’de tek bir spermatozoa bile yeterli olur. Ancak gerek kanıta dayalı tıp gerekse maliyet açısından her infertilite olgusunda ICSI yapılması hatadır. Özellikle tetkik sonuçları erkek faktörüne işaret ediyorsa veya daha önceki fertilizasyon denemeleri başarısız kalmışsa ICSI düşünölmeli, izah edilemeyen infertilite ve kadın faktörü olgularında doğrudan ICSI’ye geçilmeyip, diğere yöntemler denenmelidir.

Aşağıdaki durumlarda ÜYT endikasyonu vardır:

- a. Ürolojik ya da medikal tedavilerin başarılı olmadığı durumlar
- b. Açıklanamayan infertilite olguları
- c. Temel sperm parametrelerinde orta ya da şiddetli bozukluk bulunması
- d. Sperm fonksiyon testlerinde patolojik sonuç alınması

ÜYT’de kullanılmadan önce semenin hazırlanması gerekir. Bu yöntemlerin hepsinde de seminal plazma ortamdan uzaklaştırılırken, motilitesi bulunmayan sperm ve lökositler elimine edilerek motil sperm seçimi yapılır. Spermin yıkanarak hazırlanmasında sıklıkla 4 metod kullanılır:

- 1- Swim-up ( yüzdürme) tekniğı
- 2- Standart yıkama yöntemi ( santrifüj ve yüzdürme )
- 3- Gradient tekniğı
- 4- Mini- gradient yöntemi

Sperm yıkandıktan sonra ileri motil (a+b katogorisinde) total sperm sayısı 5 milyondan fazla ise en az 3 en çok 6 siklus IUI ile tedaviye başlanır. Ancak kadının yaşı >35 ise, IVF/ICSI tercih edilebilir. Total motil sperm sayısının 5 milyondan az ve morfolojisinde % 4-14 arasında olduğı olgularda IVF önerilir. Total motil sperm sayısının < 1.5 milyon ve kesin morfolojinin < %4 olması durumunda ise ICSI uygundur. Ancak bazı otörler geniş serilerine dayanarak, total motil sperm sayısı 1 milyonunu altına inmedikçe ve normal morfoloji > % 4 kaldıkça IUI’dan vazgeçilmemesini önermektedirler (112).

IUI’da gebeliklerin büyük kısmı ilk üç siklus sırasında görülür. Bundan sonraki sikluslarda özel indüksiyon şemaları uygulanarak çok az sayıda gebelik gelişebilmektedir. Kadında klomifen sitrat ile indüksiyon yapıldığı zaman siklus

başına sıklıkla % 5-8 arasında değişen gebelik oranları elde edilmektedir. Gonadotropin ile ovulasyon indüksiyonu yapılmış IUI'larda ise siklus başına ortalama % 10-15 gebelik görülmektedir (112).

IVF ve ICSI yöntemleriyle nakledilen embriyoların sadece % 20-30'u implante olur ve klinik gebelikle sonuçlanır. Son yıllarda, embriyolar kültür ortamında 5 gün bekletilerek blastosist safhasına geldikten sonra transfer edilmeye başlanmıştır. IVF'de gebelik oranları üzerine kadın yaşının önemli etkisi bulunur. Otuzbeş yaş altı kadınlarda gebelik oranları % 35.7, 40 yaş üzerindeki de ise % 13.2 olarak bildirilmiştir (113). ICSI ile de benzer ya da kısmen daha iyi sonuçlar elde edilmektedir.

Her ne kadar bu teknoloji infertil erkeklerin tedavisinde büyük üstünlük sağlamaktaysa da bu tekniklerin kısmen yeni oldukları ve uzun dönem güvenilirliklerinin henüz belirlenmediği de akılda tutulmalıdır. ICSI sikluslarından doğan çocuklarda seks kromozom anomalilerinde artış olduğunu gösteren kanıtlar vardır (112,114).

## **2.8. Spermde FISH Analizi**

Kromozom anomalilerinin orijinini etkileyen mekanizmaları anlamak için gamet hücrelerinin incelenmesi gerekir çünkü bölünme kusurlarının büyük bir bölümü mayoz sırasında oluşmaktadır. İnsan gamet hücrelerindeki kromozom anomali sıklığı halen araştırılmakta olan bir konudur. Geçen otuz yıl içerisinde, insan spermindeki kromozom komplementinin analizi ve anöploidi taraması için değişik indirekt ve/veya direkt yöntemler denenmiştir (115).

İlk çalışmalar interfaz spermindeki Y-cisimciği ya da F-cisimciğini (Y-body, F-body) ortaya koymak üzere 1970 yılında Barlow ve Vosa tarafından yapılmıştır. Bu araştırmacılar Y-kromozomunun heterokromatin bölgesini (Yqh) boyayan bir boya olan quinacrine kullanmışlar ve sperm kromatininde parlak bir floresan bölge (spot) gözlediklerini rapor etmişlerdir. Bu teknikle Y-kromozomuna sahip sperm oranı belirlenmesi ve Y-kromozomuna ilişkin anöploidi oranını bulmayı amaçlamışlardır. Teknik non spesifik sinyallerin yanlış değerlendirilmesi ve gelişen tekniklerle karşılaştırıldığında kromozom ayrılama frekansı, nükleer kitle ölçümleri sonuçlarının uyumsuz bulunması nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır (3).

Çeşitli yöntemler var olmakla birlikte spermden kromozom elde etmek oldukça zor bir işlemdir. 1978 yılında Rudak ve arkadaşları ilk kez insan sperm kromozomlarının direkt analizine izin veren sperm-hamster oosit penetrasyon metodunu tanımlamışlardır. Verilerinin çok değerli ve güvenilir olmasına rağmen tekniğin uygulanmasındaki zorluklar, çok emek istemesi ve pahalı olması, bir bireye ilişkin çok sayıda hücrenin değerlendirilememesi pratikte uygulanamamasına neden olmuştur (4,116,117). Bunun yanında hamster oositleri ile penetrasyon sonrası incelenebilen sperm kromozomları sadece penetrasyona girmiş spermlerle ilgili bilgi vericidir. Dolayısıyla incelenebilecek sperm sayısı sınırlıdır ve fertilizasyon yeteneği olan hücrelerle ilgilidir (118).

Interfaz FISH tekniğinin kültüre edilmemiş hücrelerde DNA problemleri ile interfaz kromatininin incelenmesine imkan vermesi sperm çalışmalarına da yeni bir yaklaşım getirmiştir. Kromozom spesifik DNA problemleriyle FISH tekniği, insan interfaz spermlerinin anöploidisi açısından taranması için hızlı, alternatif bir tekniktir. FISH bir moleküler sitogenetik tekniktir. Genom üzerinde bir hedef bölgeye karşılık gelen komplementer baz dizilişine sahip floresan işaretli bir DNA dizisi (prob) bu hedef dizinin varlığı ve/veya yokluğu hücresel ortamda tesbit eder. Yöntemin avantajı hem metafaz kromozomlarına hem de interfaz nükleusuna uygulanabilir olmasıdır. Bunun yanında kısa sürede çok sayıda nükleusun değerlendirilebilir olması, özgünlüğünün ve duyarlılığının yüksek olması, mozaik yapıyı değerlendirebilmesi yöntemin diğer avantajlarıdır. Bu nedenle yöntem, intakt sperm nükleusunu değerlendirebilmek aynı zamanda çok sayıda sperm nükleusunda sonuç almak için son derece uygundur. Ayrıca bu yöntemle birbirinden farklı sperm nükleuslarının farklı anöploid yapıları ortaya konabilmekte ve sonuçlar bir oran şeklinde verilebilmektedir (118).

### **2.8.1. İnfertil Erkeklerde Spermde FISH Analizi**

Birçok infertil çiftte problem, erkeklerde anormal karyotip nedeniyle yetersiz sperm üretimidir. Azoospermi ya da oligospermili %3-13 erkeklerde sayısal ya da yapısal gonozomal anomaliler (çoğunlukla XXY ve Y yeniden düzenlenmeleri) ve yapısal otozomal anomaliler (çoğunlukla resiprokal ve Robertsonian translokasyonlar) görülür (4,115,119). Nadir anomaliler Y; otozom translokasyonları ve küçük izodisentrik 15 anomalileridir. Translokasyon taşıyıcıları klasik kromozom analizi ile

belirlenmektedir. Y-kromozomunun uzun kol mikrolelesyonları çeşitli moleküler genetik teknikler ile ortaya konmaktadır. İnfertil erkeklerde bu iki anomali grubu ayırd edildikten sonra normal karyotipe sahip ve Y-kromozomunun AZF bölgesinde mikrolelesyonu olmayan bireyler kalmaktadır (4,115). Özellikle karyotipik olarak normal fakat sperm sayısı anormal azalmış olgularda sperm aneuploidi ve/veya diploidi oranında artış belirlenmiştir. Bu artış özellikle seks kromozomlarında dizomi eğilimi olarak kendini göstermiştir. Şiddetli oligospermisi olan 40 yaş ve üstü erkeklerde bu durum çok daha belirgindir. 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarından kaynaklanan sperm dizomi sıklığının sperm sayısı ve motilitesi ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Şiddetli oligoastenozoospermili erkeklerden yapılmış olan testis biyopsilerindeki univalent veya oligokiyazmatik ve akiyazmatik bivalentlerin sıkça gözlenmesi bu açıklamayı doğrulamaktadır. Azoospermisi olan erkeklerde bazı otozom ve X/Y kromozom dizomilerinin daha da yükselmiş oranlarda saptandığı bildirilmiştir (3,4,5,8,117,119,120)

İnfertil çiftlerde uygulanan yardımcı üreme tekniklerinde özellikle spermatozoon nükleer kalitesi kesin olarak belirlenememektedir. Yapılan çalışmalarda semen parametreleri (sperm konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi) ve sperm anöploidi oranları arasındaki ilişki gösterilmiştir. Yüksek sperm anöploidisi oranı yardımcı üreme teknikleri başarısında negatif bir parametredir. Anöploid ve diploid sperm üretimine yatkınlık kromozomal olarak anormal konseptus riskini arttıracaktır. Sonuç olarak bu durum implantasyon başarısızlığı ve/veya gebelik kayıplarına yol açacaktır. Bu nedenle sperm anöploidi oranının belirlenmesi iki aşamalı bir test şeklinde önerilmektedir. Birincisi tüm infertil çiftlerde reproduktif uygulamalara geçmeden önce sperm anöploidi şeklini ortaya koyan bir prediktif test olarak, ikincisi de başarısız üç ICSI denemesinden sonra uygulanan bir tanı testi olarak kullanılması önerilmektedir (3,4,119-121)



### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3. 1. Gereçler

##### 3. 1. 1. Kullanılan Gereçler

Buzdolabı (Arçelik 415)

Sensys kamera (Sensys)

Deep-Freeze (Heraeus)

Elektronik terazi (Seuter, Ainworth-AA-250, Setra-M2000L)

Etüv (Friocell MMM Med Center)

Floresan mikroskop (Olympus BX-61)

Image Analyser (Applied Imaging)

Su banyosu (Nüve)

Mikropipet (Eppendorf)

Mikrosantrifüj (Eppendorf Centrifuge 5415)

Vortex (Janke and Kunkel, UF-2)

pH Metre (Jenco)

Pipet uçları

Beher (500 ml, 1000 ml)

Erlenmayer (500 ml, 1000 ml)

Lam

Lamel

Mezür

Yatay ve dikey şale

Kronometre

Ependorf tüpü (1,5 ml lik)

Enjektör

Termometre

Cam kalemi

### 3. 1. 2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Absolüt Alkol (Merck)  
 Antifade (Vector)  
 DAPI (Sigma)  
 DDT (Sigma)  
 Distile Su  
 HCl (Merck)  
 Immersiyon yağı (Merck)  
 Ksilol (Merck)  
 LIS (Sigma)  
 Metanol (Merck)  
 $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Carlo Erba)  
 NaCl (Merck)  
 NaOH ( Merck )  
 Pepsin (Sigma)  
 Parafilm  
 Rubber Cement (Marabu Fixo Gum)  
 Sitrik asit (Sigma)  
 Tris (Merck)  
 Tween 20 (Sigma)

### 3. 1. 3. Kullanılan Problar

FISH analizi için FDA onaylı AneuVysion Prob Seti kullanılmıştır. Prob seti üç renkli olup iki vialden oluşmaktadır.

Vial1:

CEP18: D18Z1 Alpha Satellite DNA Probe (18p11.1-q11.1 Spectrum Aqua)

CEP X: DXZ1 Alpha Satellite DNA Probe (Xp11.1-q11.1 Spectrum Green)

CEP Y: DYZ3 Alpha Satellite DNA Probe (Yp11.1-q11.1 Spectrum Orange)

Vial 2:

LSI 13 : RB1 Gene DNA Probe (13q14 Spectrum Green)

LSI 21 : D21S259, D21S341, D21S342 DNA Probe

( 21q22.13-q22.2 Spectrum Orange)

## 3. 2. YÖNTEMLER

### 3. 2. 1. Materyal Seçimi

Çalışmamızda olgu grubu, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na infertilite nedeniyle başvuran, oligozoospermi tanısı alan ve fertil olduğu bilinen normozoospermili bireylerden seçilmiştir. Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yapılan genetik analizler sonunda kromozom anomalisi ve Y-kromozomu mikrolelesyonu bulunmayan 30 oligozoospermili ve 10 normozoospermili erkek olgu çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma öncesi tüm olgular çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve düzenlenmiş olan onam formu imzalatılmıştır. Çalışmamız 22 Mayıs 2007 gün ve 08 sayılı karar ile Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp fakültesi Etik Kurulundan “etik kurul onayı” almıştır.

Tüm olguların ayrıntılı fizik muayenesi yapıldıktan sonra en az 48 saatlik cinsel perhiz sonrası, mastürbasyon yöntemiyle ejakülat örnekleri steril petri kabına alınmış ve spermiyogramı yapılmıştır. Oligozoospermili olgular sperm parametrelerine göre hafif, orta ve şiddetli oligozoospermi şeklinde üç gruba ayrılmışlardır. Olguların anamnezi ile birlikte aile öyküleri, daha önce geçirilmiş enfeksiyon öyküsü ve gonodotoksik ilaç kullanım öyküleri irdelenmiştir.

Alınan ejakülatın yıkama sonrası hazırlanan preparatlara FDA onaylı AneuVysion Prob Seti (Vysis) ile FISH analizi yapılmıştır. Olgu gruplarının sonuçları karşılaştırılmış ve değerlendirilmiştir.

### 3.2.2. Örneklerin FISH Analizine Hazırlanması

#### Örneklerin Yıkınması

1. Santifüj tüpü 1800 rpm de 6 dakika santrifüje edilmiş ve supernatant atılmıştır.

2. Pelet üzerine tekrar 5 ml 0.01M Tris-0.9%NaCl ilave edilip pipetaj yapıldıktan sonra santrifüj edilmiş ve aynı işlem iki kez daha tekrarlanmıştır.

#### Preparasyon

1. Son santrifükasyondan sonra pelet 0.15 ml 0.01MTris-0.9%NaCl ile süspanse edilmiştir.

2. Süspans edilen peletten, daha önce temizlenmiş lamlara, bir lam üzerinde iki alan olacak şekilde yayma yapılmıştır.

3. Yayma yapılan preparatlar havada kurutulmuştur.

#### **Fiksasyon**

Kuruyan preparatlar 3:1 metanol/asetik asit dolu şaleye konmuştur. +4 °C de gece boyunca bekletilmiştir.

#### **Dekondenzasyon**

1. Fiske edilmiş sperm preparatları 0.1M Tris/10mM DTT dolu şalede 30 dakika oda ısısında bekletilmiştir.

2. Süre sonunda preparatlar 0.1M Tris/10mM LIS/1mMDTT bulunan şalede oda ısısında 3 saat bekletilmiştir.

3. Preparatlar 2xSSC solüsyonunda çalkalanarak kurutulmuş ve FISH işlemine kadar -20 °C de saklanmıştır.

### **3.2.3. FISH Tekniğinin Uygulaması**

#### **Preparatların Ön Yıkaması ve Denatürasyonu**

1. Preparatlar her biri 1 dakika olmak üzere sırasıyla % 100–70–50–30 luk alkol serisinden geçirilerek dehidre edilmiştir.

2. Dehidre edilen preparatlar 1 dakika oda ısısındaki 0.1XSSC solüsyonundan geçirilmiştir.

3. Ardından preparatlar 70 °C deki 2XSSC solüsyonuna alınmış ve bu ısıda 30 dakika bekletilmiştir.

4. Süre sonunda 2XSSC solüsyon ısısının 37 °C ye gelmesi beklenmiştir.

5. Daha sonra preparatlar 1 dakika oda ısısındaki 0.07 M lık NaOH solüsyonunda denatüre edilmiştir.

6. Denatürasyonu takiben preparatlar sırasıyla 1 dakika +4 °C de 0.1XSSC ve +4 °C de 2XSSC de bekletilmiştir.

7. Bundan sonra preparatlar % 30 – 50 – 70 – 100 lük alkol serisinde geçirilerek kurumaya bırakılmıştır.

#### **Prob Denatürasyonu**

Anevysion prob seti su banyosunda 5 dakika 70 °C de bekletilerek denatüre edilmiştir.

### **Hibridizasyon**

1. Her preparata uygulanacak çoklu aneuvyision prob setinin bulunduğu ependorf tüpleri santrifüj edilerek tüm probun dibe çökmesi sağlanmıştır.

2. Denatüre edilen preparatlarda belirlenen 2 alana problar ( 5 µl Aneuvyision prob seti-1 ve 5 µl Aneuvyision prob seti-2 ) eklenmiş ve her iki alan üzererine 20 mm lik kare lamel kapatılmıştır.

3. Lamel çevresi su girmemesi için yalıtılmıştır.

4. Preparatlar 37 °C de bir gece nemli ortamda hibridizasyona bırakılmıştır.

### **Hibridizasyon Sonrası Yıkamalar**

1. Hibridizasyonu tamamlanan preparatlar etüvden çıkartılarak lamellerin çevresindeki yalıtım maddesi dikkatlice temizlenmiştir.

2. Preparatlar, oda ısısındaki 2XSSC solüsyonunda hafifçe çalkalanarak lameller preparatlardan uzaklaştırılmıştır.

3. Preparatlar 74 °C deki 1XSSC solüsyonunda 5 dakika bekletilmiştir.

4. Sonrasında preparatlar oda ısısındaki 2XSSC/T-20 solüsyonunda 5 dakika bekletilmiştir.

### **Hibridize Olan Bölgelerin Görüntülenmesi**

1. Hibridizasyon sonrası yıkamaları yapılan preparatlar 4XSSC/DAPI solüsyonunda 2 dakika bekletilmiştir.

2. Süre sonunda preparatlardaki alanlara 15 µl antifade eklenmiş ve lamel ile kapatılmıştır.

3. Preparatlar inceleme aşamasına kadar – 20 °C de ve karanlıkta bekletilmiştir.

### **3.2.5. Preparatların Mikroskopta İncelenmesi**

Preparatlar Olympus BX61 Floresan mikroskobunda. uygun filtrelerle incelenmiştir. Her olgu için prob başına 2000 sperm nukleusu değerlendirilmiştir. Floresan mikroskoba bağlı bilgisayar sistemi (Applied Image Analyser) ile sinyaller analiz edilmiş ve Sensys kamera aracılığıyla resimlendirilmiştir. Analiz sonunda sayısal kromozom anomalilerinin (dizomi, nullizomi ve diploidi) oranı ortaya konmuş ve sonuçlar değerlendirilmiştir.

### 3.2.6. İsttistiksel Analiz

Çalışmamıza dahil edilen dört grup (hafif oligozoospermi, orta şiddette oligozoospermi, şiddetli oligozoospermi ve normozoospermi) olgu yaşı, sperm parametreleri (sperm sayısı, sperm motilite yüzdesi ve normal form yüzdesi) ve sperm anomali oranı (dizomi 13, dizomi 18, dizomi 21, XY, XX, YY ve diploidi) açısından karşılaştırılmıştır. Araştırılan tüm değişkenler normal dağılım göstermediği için Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks testi uygulanmış, çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn's Method kullanılmıştır.

**Tablo 3.1.** Preparatların Ön Yıkama Solüsyonları

<b><u>20XSSC Solüsyonu</u></b>	
NaCl (3 M)	175,3 gr
Tri Sodyum Sitrat (0,3 M)	88,24 gr
Distile su	1000 ml
<b><u>0,1XSSC Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	3 ml
Distile su	597 ml
Tüm solüsyonlar HCl ile pH 7.0 a ayarlanır.	

**Tablo 3.2.** Preparatların Denatürasyon Solüsyonu

<b><u>0,07 M NaOH</u></b>	
1M NaOH	14 ml
Distile su	200 ml

**Tablo 3.3.** Hibridizasyon Sonrası Solüsyonlar

<b><u>1XSSC Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	10 ml
Distile su	190 ml
<b><u>2XSSC Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	20 ml
Distile su	180 ml
<b><u>2XSSC/Tween-20 Solüsyonu</u></b>	
20XSSC	20 ml
Tween 20	100 µl
Distile su	180 ml
Tüm solüsyonlar HCl ile pH 7.0 a ayarlanır.	

**Tablo 3.4:** Görüntüleme Sistemleri Solüsyonu

<b><u>DAPI/Antifade Solüsyonu</u></b>	
2XSSC	20 ml
DAPI	100 µl
Distile su	80 ml

## 4. BULGULAR

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na infertilite nedeniyle baş vuran ve oligozoospermi tanısı alan, genetik analizler sonunda kromozom anomalisi ve Y-kromozomu mikrolelesyonu bulunmayan 30 oligozoospermili ve 10 normozoospermili olgu çalışmaya dahil edilmiştir.

### 4.1. Çalışmamıza Katılmış Olan Olguların Özellikleri

Çalışma grubumuza dahil edilen olgular sperm sayısına göre 10 hafif ( $10-19 \times 10^6$  sperm/ml), 11 orta şiddette ( $1-9 \times 10^6$  sperm/ml), 9 şiddetli ( $<10^6$  sperm/ml) oligozoospermi ve 10 normozoospermi ( $>20 \times 10^6$  sperm/ml) şeklinde dört gruba ayrılmışlardır. Oligozoospermili olguların yaş ortalaması  $31.83 \pm 1.16$ , normozoospermili olguların yaş ortalaması  $30.00 \pm 2.08$  olarak saptanmıştır. Dört grupta sınıflanan olgulara ilişkin yaş ve sperm sayıları ayrı ayrı Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 de ve Tablo 4.4 de gösterilmiştir. İstatistiksel analiz sonucunda çalışma grubumuzu oluşturan dört grupta yapılan karşılaştırma sonucunda Tablo 4.5 de görüldüğü gibi olgu yaşı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. ( $p=0.760$ ).

### 4.2. Olguların Sperm Parametre Bulguları

Çalışmamızda sperm parametreleri belirlenirken mililitre başına düşen sperm sayısı, sperm motilite yüzdesi ve normal form yüzdesi değerlendirilmiştir. Çalışma grubumuzu oluşturan dört grupta sperm parametrelerine ilişkin bulgular Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4 de gösterilmiştir. Araştırılan tüm değişkenler normal dağılım göstermediği için Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks testi uygulanmış, çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn's Method kullanılmıştır.



**Tablo 4.1.** Hafif Oligozoospermili Olguların Yaş ve Semen Parametreleri

Olgu No	Olgu Yaşı	Sperm/ml (x10 <sup>6</sup> )	Motilite %	Normal Form %
1	26	19.0	57	12
2	28	19.0	51	6
3	38	19.0	52	5
4	39	18.0	39	3
5	29	18.0	50	13
6	34	16.0	50	4
7	40	15.5	52	28
8	25	14.0	85	4
9	32	10.0	25	14
10	29	10.0	40	7

**Tablo 4.2.** Orta Şiddette Oligozoospermili Olguların Yaş ve Semen Parametreleri

Olgu No	Olgu Yaşı	Sperm/ml (x10 <sup>6</sup> )	Motilite %	Normal Form %
11	30	9.0	78	5
12	33	8.0	75	2
13	29	8.0	50	6
14	38	6.0	50	24
15	45	6.0	50	6
16	30	5.0	60	4
17	26	4.0	30	2
18	28	2.6	38	4
19	38	1.6	56	10
20	32	1.5	60	14
21	26	1.2	33	0

**Tablo 4.3.** Şiddetli Oligozoospermili Olguların Yaş ve Semen Parametreleri

Olgu No	Olgu Yaşı	Sperm/ml (x10 <sup>6</sup> )	Motilite %	Normal Form %
22	29	0.8	38	2
23	22	0.6	33	0
24	27	0.6	50	0
25	23	0.4	100	0
26	43	0.3	66	Okunamadı
27	37	0.2	50	Okunamadı
28	44	0.2	0	0
29	24	0.2	0	0
30	31	0.1	100	Okunamadı

**Tablo 4.4.** Normospermili Olguların Yaş ve Semen Parametreleri

Olgu No	Olgu Yaşı	Sperm/ml (x10 <sup>6</sup> )	Motilite %	Normal Form %
N1	42	84.2	54	34
N2	28	84.8	92	32
N3	21	81.5	48	19
N4	32	59.8	85	31
N5	25	275	65	30
N6	31	114	60	18
N7	27	52.7	52	29
N8	23	35.3	42	15
N9	38	42.4	50	24
N10	33	81.5	75	19

#### 4.2.1. Olguların Sperm Sayısı Bulguları

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın sperm sayısı (sperm/ml  $\times 10^6$ ) bulguları Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4 de gösterilmiştir.

Dört grup karşılaştırıldığında tüm gruplar arasında farklılık vardır ( $p < 0.05$ ). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda hafif oligozoospermili grupta medyan değer 17.00 ( $\times 10^6$ ), orta şiddette oligozoospermili grupta 5.00 ( $\times 10^6$ ), şiddetli oligozoospermik grupta 0.30 ( $\times 10^6$ ) ve normozoospermik grupta 81.50 ( $\times 10^6$ ) şeklinde bulunmuştur (Tablo 4.5).

#### 4.2.2. Olgularının Sperm Motilitesi Bulguları

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın sperm motilitesi yüzdesi bulguları Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4 de gösterilmiştir.

Buna göre çalışma grubumuzu oluşturan olguların motilitesi için medyan değerler sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için %50.50, orta şiddette oligozoospermili olgular için %50, şiddetli oligozoospermili olgular için %50 ve normozoospermi için %56 olarak saptanmış ve gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.5 de görüldüğü gibi istatistiksel anlamlı bir fark bulunamamıştır ( $p = 0.419$ ).

#### 4.2.3. Olgularının Normal Sperm Formu Bulguları

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın normal sperm formu yüzdesi bulguları Tablo 4.1, Tablo 4.2, Tablo 4.3 ve Tablo 4.4 de gösterilmiştir.

Buna göre çalışma grubumuzu oluşturan olguların normal sperm formu yüzdesi için yapılan istatistiksel analiz sonucunda medyan değerleri sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için %6.50, orta şiddette oligozoospermili olgular için %5.00, şiddetli oligozoospermili olgular için %0, normozoospermili olgular için %26.50 olarak saptanmıştır. Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.5 de görüldüğü gibi fark saptanmıştır ( $p < 0.005$ ). Buna göre, normal sperm formu yüzdesi normozoospermik grupta, hafif oligozoospermili olgular, orta şiddette oligozoospermili olgular ve şiddetli oligozoospermili olgulara göre oldukça yüksek olarak saptanmıştır.

**Tablo 4.5.** Olgu Gruplarının Semen Parametreleri Açısından İstatistiki Karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar	Medyan (%25-75)	Test sonuçları	Karşılaştırma Sonuçları			
				1	2	3	4
<b>Yaş</b>	1	30.50 (28.00-38.00)	H=1.169 sd=3 p=0.760				
	2	30.00 (28.25-36.75)		Ns			
	3	29.00 (23.75-38.50)		Ns	Ns		
	4	29.50 (25.00-33.00)		Ns	Ns	Ns	
<b>Sperm/ml (x10<sup>6</sup>)</b>	1	17.00 (14.00-19.00)	H=36.597 sd=3 p<0.001				
	2	5.00 (1.85-7.50)		Ns			
	3	0.30 (0.20-0.60)		Ns	Ns		
	4	81.50(52.70-84.80)		*	*	*	
<b>Motilite %</b>	1	50.50 (40.00-52.00)	H=2.827 sd=3 p=0.419				
	2	50.00 (41.00-60.00)		Ns			
	3	50.00 (24.75-74.50)		Ns	Ns		
	4	56.00 (51.00-79.00)		Ns	Ns	Ns	
<b>Normal Form %</b>	1	6.50 (4.00-13.00)	H=25.820 sd=3 p=<0.001				
	2	5.00 (2.50-9.00)		Ns			
	3	0.00 (0.00-0.00)		Ns	Ns		
	4	26.50 (19.00-31.00)		Ns	*	*	

\*: p<0.05

Ns: İstatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır

1: Hafif Oligozoospermik Grup

2: Orta Şiddette Oligozoospermik Grup

3: Şiddetli Oligozoospermik Grup

4: Normozoospermik Grup

### **4.3.Olguların Sperm Kromozom Anomali Frekansı Bulguları**

Çalışma grubumuzu oluşturan dört gruptan alınan ejakülden yıkama sonrası hazırlanan preparatlara AneuVysion Prob Seti (Vysis) ile FISH analizi yapılmıştır.

Çalışmaya katılan tüm olgular, normal oosit ile fertilizasyon sonrası yaşamla bağdaşabilecek konseptus oluşturabilecek kromozom anomalileri açısından değerlendirilmiştir. Bu nedenle dizomi 13, dizomi 18, dizomi 21, XY, XX, YY ve diploid kromozom kuruluşuna sahip sonuçlar değerlendirilmiştir. Sperm kromozom anomalisine ilişkin tüm değişkenler normal dağılım göstermediği için Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks testi uygulanmış, çoklu karşılaştırma testi olarak Dunn's Method kullanılmıştır. Dört grupta saptanan sperm kromozom anomali frekanslarına ilişkin bulguların sonuçları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 da gösterilmiştir.

#### **4.3.1.Dizomi 13 Kromozom Anomali Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın dizomi 13 bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların dizomi 13 sıklığı için yapılan istatistiksel analizi sonucunda medyan değerleri sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 1.605, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 1.460, şiddetli oligozoospermili olgular için % 3.630, normozoospermili olgular için ise %0.055 olarak saptanmıştır. Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu farklılık normozoospermi grubu ile ortaya çıkmıştır. Bu sonuca göre oligozoospermi gruplarındaki dizomi 13 frekansı normozoospermi grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak oligozoospermi derecesi ile dizomi 13 sıklığı artışı arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

#### **4.3.2. Dizomi 18 Kromozom Anomali Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın dizomi 18 bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların dizomi 18 için yapılan istatistiksel analizi sonucunda medyan değerleri sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 2.320, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 1.620, şiddetli oligozoospermili olgular için % 4.120, normozoospermili olgular için ise 0.100 olarak saptanmıştır.

Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu farklılık normozoospermi grubu ile ortaya çıkmıştır. Bu sonuca göre oligozoospermi grubundaki dizomi 18 frekansı normozoospermi grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak oligozoospermi derecesi ile dizomi 18 sıklığı artışı arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

#### **4.3.3. Dizomi 21 Kromozom Anomali Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın dizomi 21 bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların dizomi 21 için yapılan istatistiksel analizi sonucunda medyan değerleri sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 0.205, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 0.900, şiddetli oligozoospermili olgular için % 1.960, normozoospermili olgular için ise %0.055 olarak saptanmıştır. Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu farklılık şiddetli oligozoospermili olgular, hafif oligozoospermili olgu grubu ve normozoospermi grubu ile ortaya çıkmıştır. Bu sonuca göre dizomi 21 frekansı şiddetli oligozoospermisi bulunan olgularda normozoospermili olgulara ve hafif oligozoospermili olgulara göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak şiddetli oligozoospermisi bulunan olgular ile orta şiddette oligozoospermili olgular arasında dizomi 21 sıklığı için bir fark gözlenmemiştir.

#### **4.3.4. XY Sperm Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın XY sperm frekansı bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların XY sperm frekansı için yapılan istatistiksel analizi sonucunda medyan değerleri sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 1.010, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 2.510, şiddetli oligozoospermili olgular için % 6.720, normozoospermili olgular için ise %0.100 olarak saptanmıştır (Tablo 4.10). Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu farklılık şiddetli oligozoospermili olgular, hafif oligozoospermili olgu grubu ve normozoospermi grubu ile ortaya çıkmıştır.



Bu sonuca göre XY sperm frekansı şiddetli oligozoospermisi bulunan olgularda kontrol olguları ve hafif oligozoospermili olgulara göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak şiddetli oligozoospermisi bulunan olgular ile orta şiddette oligozoospermili olgular arasında XY sperm frekansı için bir fark gözlenmemiştir. Diğer oligozoospermi gruplarında bir farklılık gözlenmemiştir.

#### **4.3.5. XX Sperm Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın XX sperm frekansı bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların XX sperm frekansı için yapılan istatistiksel analiz sonucunda şiddetli oligozoospermili olgularda medyan değerler sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 0.525, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 0, şiddetli oligozoospermili olgular için % 2.570, normozoospermili olgular için ise %0 olarak saptanmıştır (Tablo 4.10).

Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p < 0.001$ ). Bu farklılık orta şiddette oligozoospermi olgu grubu, şiddetli oligozoospermi olgu grubu, ve normozoospermi olgu grubu ile ortaya çıkmıştır. Bu sonuca göre XX sperm frekansı şiddetli oligozoospermisi bulunan olgularda kontrol olguları ve orta şiddette oligozoospermili olgulara göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak şiddetli oligozoospermisi bulunan olgular ile hafif oligozoospermili olgular arasında XX sperm frekansı için bir fark gözlenmemiştir. Diğer oligozoospermi grupları kendi aralarında ve normozoospermi grubu ile kıyaslandığında da farklılık gözlenmemiştir.

#### **4.3.6. YY Sperm Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın YY sperm frekansı bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların YY sperm frekansı için yapılan istatistiksel analiz sonucunda medyan değerler sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 0.100, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 0, şiddetli

oligozoospermili olgular için % 1.170, normozoospermili olgular için ise %0 olarak saptanmıştır (Tablo 4.10).

Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p=0.040$ ). Bu farklılık şiddetli oligozoospermik olgular, ve normozoospermik olgular ile ortaya çıkmıştır.

Bu sonuca göre YY sperm frekansı şiddetli oligozoospermisi bulunan olgularda kontrol olgularına göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak şiddetli oligozoospermisi bulunan olgular ile hafif oligozoospermili ve orta şiddette oligozoospermili olgular arasında YY sperm sıklığı için bir fark gözlenmemiştir. Diğer oligozoospermi grupları kendi aralarında ve normozoospermi grubu ile kıyaslandığında da farklılık gözlenmemiştir.

#### **4.3.7. Diploidi Frekansı Bulguları**

Araştırma grubumuzu oluşturan ve dört alt grupta sınıflanan olgularımızın diploidi sperm frekansı bulguları Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ve Tablo 4.9 de gösterilmiştir.

Çalışma grubumuzu oluşturan olguların diploidi frekansı için yapılan istatistiksel analiz sonucunda medyan değerler sırasıyla hafif oligozoospermili olgular için % 0.210, orta şiddette oligozoospermili olgular için % 1.300, şiddetli oligozoospermili olgular için % 4.170, normozoospermili olgular için ise %0 olarak saptanmıştır (Tablo 4.10).

Gruplar karşılaştırıldığında Tablo 4.10 da görüldüğü gibi aralarında fark bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Bu farklılık tüm olgu grupları ile ortaya çıkmıştır.

Bu sonuca göre diploid sperm frekansı şiddetli oligozoospermisi bulunan olgularda kontrol olguları ve hafif oligozoospermili olgulara göre anlamlı derecede artmıştır. Ancak şiddetli oligozoospermisi bulunan olgular ile hafif oligozoospermili olgular arasında diploid sperm sıklığı için bir fark gözlenmemiştir. Yine diploidi oranı açısından orta şiddette oligozoospermisi bulunan olgular ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, orta şiddette oligozoospermisi bulunan olgularda diploidi oranında artış görülmüştür. Hafif oligozoospermi grubu ile kontrol grubu ile kıyaslandığında diploidi oranı açısından farklılık gözlenmemiştir.

**Tablo 4.6.** Hafif Oligozoospermili Olguların Sperm Kromozom Anomali

Frekans (%)

Olgu No	Dizomi 13	Dizomi 18	Dizomi 21	XY	XX	YY	Diploidi
1	0.40	4.53	0.61	3.14	0.87	1.57	0
2	3.44	3.93	0	0.01	0.02	0.01	0
3	1.10	2.75	1.10	3.52	1.17	0	0.55
4	3.40	2.33	0	0	0	0	0
5	2.09	2.31	0	0	0	0	0
6	2.74	1.29	1.03	1.12	0.67	1.01	0.42
7	1.25	3.43	0	4.23	2.96	0.60	0.98
8	1.96	0.43	0	0	2.23	0.60	0.98
9	1.05	1.11	0.63	1.53	0.38	0.19	0.63
10	0.41	0.69	0.41	0.90	0	0	0

**Tablo 4.7.** Orta Şiddette Oligozoospermili Olguların Sperm Kromozom Anomali Frekansı (%)

Olgu No	Dizomi 13	Dizomi 18	Dizomi 21	XY	XX	YY	Diploidi
11	1.46	1.25	1.95	0	0	0	2.20
12	0.85	2.62	0.71	4.44	1.17	0.23	1.28
13	1.24	2.80	1.55	2.51	3.83	0.63	3.21
14	6.30	1.62	0.90	0.98	0	0	0.52
15	0.24	1.57	0.24	2.31	0	0	1.16
16	8.62	1.70	0	3.25	2.27	0	3.67
17	2.70	2.10	2.70	5.10	0	0	2.23
18	1.38	1.01	1.38	2.06	0	1.03	1.30
19	2.08	1.40	0.69	2.75	1.00	0.50	3.71
20	5.12	1.96	1.28	3.17	2.11	1.05	0
21	0.72	1.06	0.48	0	0	0	0

**Tablo 4.8.** Şiddetli Oligozoospermili Olguların Sperm Kromozom Anomali

Frekans (%)

Olgu No	Dizomi 13	Dizomi 18	Dizomi 21	XY	XX	YY	Diploidi
22	3.63	4.54	1.81	15.90	2.27	0	8.88
23	4.30	9.32	2.87	7.07	2.57	0.32	2.39
24	3.12	4.46	1.77	8.75	2.87	2.11	7.69
25	5.27	2.73	2.12	6.23	2.65	1.27	6.87
26	9.18	5.87	3.24	7.85	3.11	0.13	5.73
27	3.29	4.12	1.67	6.72	1.07	1.44	4.12
28	1.96	2.53	1.96	3.52	2.35	1.17	2.12
29	1.85	1.92	0	1.72	3.44	0	1.25
30	4.21	3.37	8.79	5.26	1.05	2.10	4.17

**Tablo 4.9.** Normozoospermili Olguların Sperm Kromozom Anomali Frekansı (%)

Olgu No	Dizomi 13	Dizomi 18	Dizomi 21	XY	XX	YY	Diploidi
N1	0	0.12	0	0.18	0	0	0
N2	0	0.11	0	0.19	0	0	0
N3	0.1	0.1	0	0	0	0	0
N4	0	0.13	0.1	0.1	0.1	0	0
N5	0.1	0.1	0.2	0.5	0.5	0.1	0.1
N6	0.1	0.05	0.12	0	0	0	0
N7	0.1	0.1	0.2	0.5	0.5	0.1	0
N8	0.1	0.05	0.1	0.1	0.1	0	0
N9	0	0.01	0.01	0	0	0.4	0
N10	0.01	0	0.01	0	0	0	0

**Tablo 4.10.** Olgu Gruplarının Sperm Anomali Oranları Açısından İstatistiki Karşılaştırılması

Değişkenler	Gruplar	Medyan (%25-75)	Test sonuçları	Karşılaştırma Sonuçları			
				1	2	3	4
<b>Gruplar</b>							
<b>Dizomi 13</b>	1	1.650 (1.050-2.740)	H=25.606 sd=3 p=<0.001				
	2	1.460 (0.948-4.515)		Ns			
	3	3.630 (0.948-4.515)		Ns	Ns		
	4	0.055 (0-0.100)		*	*	*	
<b>Dizomi 18</b>	1	2.320 (1.110-3.430)	H=27.848 sd=3 p=<0.001				
	2	1.620 (1.288-2.065)		Ns			
	3	4.120 (2.680-4.873)		Ns	Ns		
	4	0.100 (0.050-0.110)		*	*	*	
<b>Dizomi 21</b>	1	0.205 (0-0.630)	H=19.657 sd=3 p=<0.001				
	2	0.900 (0.532-1.508)		Ns			
	3	1.960 (1.745-2.963)		*	Ns		
	4	0.055 (0-0.120)		Ns	Ns	*	
<b>XY</b>	1	1.010 (0-3.140)	H=22.082 sd=3 p=<0.001				
	2	2.510 (1.250-3.230)		Ns			
	3	6.720 (4.825-8.075)		*	Ns		
	4	1.000 (0-0.190)		Ns	Ns	*	
<b>XX</b>	1	0.525 (0-1.170)	H=16.520 sd=3 p=<0.001				
	2	0 (0-1.875)		Ns			
	3	2.570 (1.970-2.930)		Ns	*		
	4	0 (0-0.100)		Ns	Ns	*	
<b>YY</b>	1	0.100 (0-0.600)	H=8.326 sd=3 p=0.040				
	2	0 (0-0.598)		Ns			
	3	1.170 (0.097-1.605)		Ns	Ns		
	4	0 (0-0.100)		Ns	Ns	*	
<b>Diploidi</b>	1	0.210 (0-0.630)	H=27.325 sd=3 p=<0.001				
	2	1.300 (0.680-2.965)		Ns			
	3	4.170 (2.322-7.075)		*	Ns		
	4	0 (0-0)		Ns	*	*	

\*: p<0.05

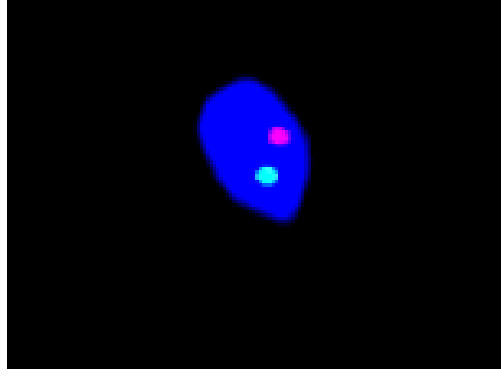
Ns: İstatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır

1: Hafif Oligozoospermik Grup

2: Orta Şiddette Oligozoospermik Grup

3: Şiddetli Oligozoospermik Grup

4: Normozoospermik Grup



**Şekil 4.1.** Kromozom 13 (yeşil) ve Kromozom 21(kırmızı) için Normal Sperm

(RB1 Gene DNA Probe 13q14 Spectrum Green, D21S259, D21S341, D21S342 DNA Probe 21q22.13-q22.2 Spectrum Orange, AneuVysion Vysis)

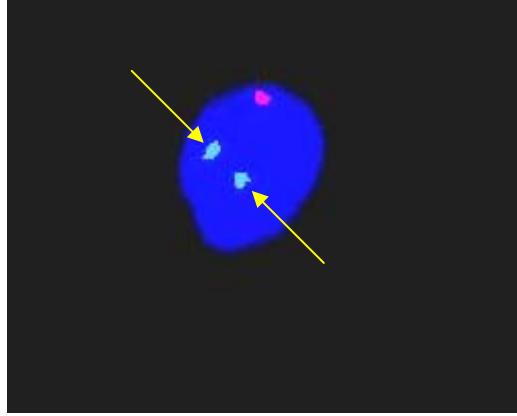


**Şekil 4.2.** Kromozom Y (kırmızı) için Normal Sperm (DYZ3 Alpha Satellite DNA Probe Yp11.1-q11.1 Spectrum Orange, AneuVysion Vysis)

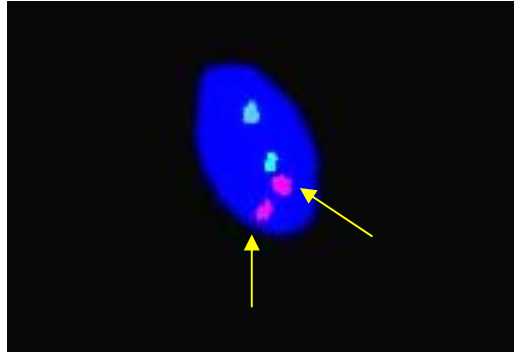


**Şekil 4.3.** Kromozom X (Yeşil) için Normal Sperm (CEP X: DXZ1 Alpha Satellite DNA Probe , Xp11.1-q11.1 Spectrum Green, AneuVysion Vysis)

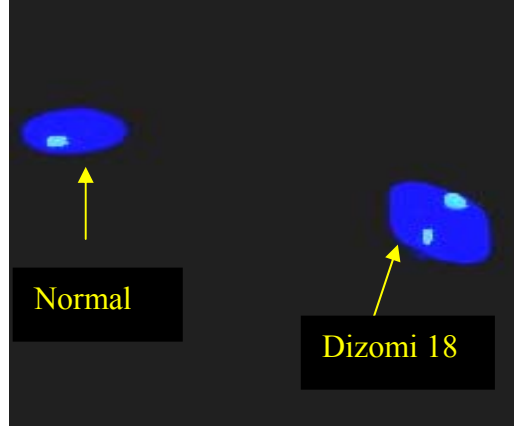




**Şekil 4.4.** XXY Sperm Kromozom X (yeşil) ve Kromozom Y (kırmızı) (DXZ1 Alpha Satellite DNA Probe Xp11.1-q11.1 Spectrum Green, DYZ3 Alpha Satellite DNA Probe Yp11.1-q11.1 Spectrum Orange, AneuVysion Vysis)



**Şekil 4.5.** YY Sperm Kromozom Y (kırmızı), Kromozom X (yeşil) ve Kromozom 18 (mavi) (DXZ1 Alpha Satellite DNA Probe Xp11.1-q11.1 Spectrum Green, DYZ3 Alpha Satellite DNA Probe Yp11.1-q11.1 Spectrum Orange, D18Z1 Alpha Satellite DNA Probe 18p11.1-q11.1 Spectrum Aqua, AneuVysion Vysis)



**Şekil 4.6.** Kromozom 18 için normal ve dizomik sperm (D18Z1 Alpha Satellite DNA Probe 18p11.1-q11.1 Spectrum Aqua, AneuVysion Vysis)

## 5. TARTIŞMA

Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na infertilite nedeniyle başvuran ve oligozoospermi tanısı alan, genetik analizler sonunda kromozom anomalisi ve Y-kromozomu mikrolelesyonu bulunmayan 30 oligozoospermili ve 10 normozoospermili olgunun, sperm parametre ve sperm kromozom anomali frekansı sonuçları tartışılacaktır.

Kromozom anomalilerinin orijinini etkileyen mekanizmaları anlamak için gamet hücrelerinin incelenmesi gerekir. Çünkü bölünme kusurlarının büyük bir bölümü mayoz sırasında oluşmaktadır. Spontan abortus ve intrauterin ölümlerin en önemli nedeni kromozom anöploidileridir. Germ hücrelerinde kromozom ayrılamaması (nondisjunction) sonucu meydana gelen anomaliler, kromozomal anomalili fetus ve çocukların doğma olasılığının artmasına neden olur (3,4,5,8,122).

Özellikle üremeye yardımcı tekniklerin gelişmesi ile, de novo kromozom anomalisi bulunan çocuk sahibi olma riksini arttırdığı bildirilmektedir (3,119,120). İnfertil erkeklerin spermeleri kullanılarak gerçekleştirilen ICSI gibi yardımcı üreme teknikleri sonrası oluşan gebelik sonuçları, bu kromozom anomalilerinin büyük kısmının paternal kaynaklı olduğunu göstermiştir (3-5). ICSI ile gebelik sağlanan çiftlerde, erkeğin spermelerinin FISH ile incelenmesi sonucu sperm anöploidi oranının artmış olduğu bildirilmektedir (3,6). Ayrıca semen parametrelerinde de anormalliklerin olabileceği bildirilmektedir. Semen parametrelerindeki bu anormallikler sperm anöploidileri ile de ilişkilendirilmektedir (3,4,7)

Literatürde normal somatik karyotipe sahip olan infertil erkeklerde FISH ile sperm anöploidilerinin tespitine ilişkin 30'un üstünde çalışma bulunmaktadır (4,7). Bu çalışmaların büyük kısmında sperm parametreleri ve sperm kromozom anomalileri arasında anlamlı bir bağlantı olduğu ve düşük kalitede sperm parametreleri bulunan olgularda sperm kromozom anomali oranının, normal donörlerle karşılaştırıldığında 2 ila 10 kat yükseldiği bildirilmiştir (4). Bunun yanında az sayıdaki çalışmada ise düşük kalitede sperm parametreleri ile sperm kromozom anomalileri arasında bağlantının bulunmadığından söz edilmektedir (4,7).

Çalışmamızda sperm parametreleri ile sperm kromozom anomalileri arasında bağlantı bulunmuş ve normozoospermik grup ile oligozoospermik grup arasında kromozom anomali frekansı bakımından fark olduğu tespit edilmiştir.

Literatürde bildirilen çalışmalara bakıldığında birbirinden farklı kromozomlar için anöploidi oranları ortaya konmaya çalışılmıştır. Genellikle gonozomların yanında çok farklı otozomlar incelenmiştir. İncelenen kromozomların sayıları 3 ile 14 arasında değişmekte olup, iki veya üç renkli FISH analizi yapılmıştır (3,4,5,7,116,117,119,121,123). Çalışmamızda son literatürlerde de kullanılmış olan üç renkli FISH yöntemi kullanılmıştır. Bu sayede aynı sperm içerisinde üç farklı kromozom sayısı aynı anda incelenebilmiştir. Yöntem diploid ve dizomik spermlerin kolayca ayrılmasına ve nullizomilerin belirlenmesine olanak vermiştir.

Çalışmaya alınan tüm olgular, normal oosit ile fertilizasyon sonrası yaşamla bağdaşabilecek konseptus oluşturabilecek sperm kromozom anomalileri açısından değerlendirilmiştir. Bu nedenle dizomi 13, dizomi 18, dizomi 21, XY, XX, YY ve diploid kromozom kuruluşuna sahip sonuçlar değerlendirilmiştir. Bu anomalilere sahip spermler fertilizasyon sonrası toplumda en sık gözlenen ve yaşamla bağdaşan Patau, Edwards, Down Sendromu, cinsiyet kromozom anomalileri ve triploidilere neden olmaları bakımından önem taşımaktadırlar (3,115,121).

Çalışmamızın sonuçlarında olduğu gibi literatürde de bildirilen birçok çalışmada otozom dizomileri (13,18,21) ve diploidi frekansı açısından normozoospermik grup ile oligozoospermik grup arasında fark bulunmuştur. Oligozoospermi derecesi ile dizomi frekansı ilişkisi değerlendirildiğinde ise oligozoospermi gruplarının kendi aralarında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır. Çalışmamızda olduğu gibi diğer çalışmaların büyük kısmında da normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında en farklı grubu şiddetli oligozoospermisi bulunan grup oluşturmaktadır (3,6,4,5,117,121). Normozoospermi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmuştur ( $p < 0.001$ ).

Krikpatrick ve arkadaşlarının 2008 yılında 10 olguda yaptıkları çalışmada sperm sayısı  $< 5 \times 10^6$ /ml olan hastalar gruplanmaksızın değerlendirilmiş, normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında dizomi 13, 18 ve 21 frekansında bir farklılık görülmemiştir (119). Mehdi ve arkadaşlarının 2006 yılında 12 olguda yaptıkları çalışmada sperm sayısı  $< 5 \times 10^6$ /ml olan hastalar gruplanmaksızın

değerlendirilmiş, normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında dizomi 18 frekansında bir farklılık görülmemiştir (5). Asada ve arkadaşlarının 2000 yılında 5 olguda yaptıkları çalışmada sperm sayısı  $<20 \times 10^6$ /ml olan hastalar gruplanmaksızın değerlendirilmiş, normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında dizomi 18 frekansında bir farklılık görülmemiştir (8). Çalışmamız sonuçları araştırmacıların sonuçlarından farklı bulunmuştur. Farklı araştırmacıların sonuçlarına bakıldığında sperm sayısı  $<10^6$  sperm/ml olan çok az olgunun değerlendirildiğini görmekteyiz. Bizimle birlikte sadece Martin ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada, olgular oligozoospermi derecesi açısından sınıflanmış; sperm sayısı  $<10^6$  sperm/ml olan olgu grubu (10 olgu) değerlendirilmiş ve çalışmamızla benzer sonuçlara ulaşılmıştır (3). Sonuçlar arasındaki farklılığın olgu sayısı, etnik özellik, teknik farklılık, kullanılan proplar gibi çeşitli sebeplerden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Sperm sayısı  $<10^6$  sperm/ml olan olgu grubuyla az sayıda çalışma olması nedeniyle, verilerin gelecekte yapılacak çalışmalarla karşılaştırılması ve sonuçların değerlendirilmesi gerektiği kanısındayız.

Cinsiyet kromozom dizomileri XXY (Klinefelter sendromu), XXX ve/veya XYY sendromlarına sahip embriyo oluşumuna neden olur. Bu embriyoların büyük kısmı terme ulaşırlar, doğum sonrasında çeşitli fertilitte, davranış, öğrenme ve mental problemlere sahip olurlar (3,121).

Bizim çalışmamızın sonuçları gibi, literatürde bildirilen tüm çalışmalarda oligozoospermik olgularda yapılan sperm analizinde sperm cinsiyet kromozomları için bildirilen dizomilerde (XX, XY, YY) normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında farklılık bulunmuştur. Cinsiyet kromozomu dizomilerinde oligozoospermik grupta artış bildirilmiştir (3,5,6,7,8,117,119,121). Cinsiyet kromozom dizomilerindeki bu belirgin artış dikkati çekmiş ve son yıllarda yapılan mayoz araştırmaları (sinaptonemal kompleks analizi) ile aydınlatılmaya çalışılmıştır. Mayoz araştırmaları özellikle sinaptonemal kompleks analizi mayozda homolog kromozomların incelenmesine ve mayotik rekombinasyonun gözlenmesine dayanan bir yöntemdir (4). Bu konuda Martin ve arkadaşlarının 1996 yılında öne sürdükleri hipoteze göre; mayoz bölünme sırasında kromozomların eşleşmelerinde problem yaşandığından oligozoospermi ve kromozom ayrılamaması meydana gelmektedir. İnfertil erkekte eşleşme anomalileri bazı hücrelerde mayotik arreste neden olurken bir kısım hücrede

de kromozom ayrılamamasına neden olur. Cinsiyet kromozomları (pseudootozomal segmentin çok küçük olması nedeniyle) ve küçük kromozomlar genellikle eşleştiklerinde tek cross-over (rekombinasyon) yaparlar bu nedenle eşleşme anomalilerine daha hassastırlar. Mayotik arrest sonucu oligozoospermi meydana gelirken kromozom ayrılamamasının sonucunda spermatogenez devam eder ancak, anöploidik spermatozoalar oluşur (3,4,5,119,120).

Özellikle azalan sperm sayısı ile ilişkili yüksek cinsiyet kromozom dizomi frekansı çalışmamızda ve literatürde de dikkati çeken bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır (3,5,6,7,8,117,119,121). Cinsiyet kromozom dizomi frekansı oligozoospermi derecesi ile ilişkilendirildiğinde çalışmamızda olduğu gibi diğer çalışmalarda da en farklı grubu şiddetli oligozoospermisi bulunan grup oluşturmaktadır (3,4,5,121).

Yüksek sperm kromozom anöploidisi oranı yardımcı üreme teknikleri başarısında negatif bir parametredir. Yardımcı üreme tekniklerine en çok yönlendirilen olgu grubu oligozoospermik erkeklerdir. Doğal olarak anöploid spermilerin normal spermilerin yanında zona pellucida geçişinde bir seleksiyona uğradıkları ve oositi fertilize edemedikleri bilinmektedir. ICSI aneuploid spermier için bir bariyer olabilen zona pellucida engelini ortadan kaldırmaktadır. Böylece doğal seleksiyon ortadan kaldırılarak, potansiyel anöploid embriyo oluşabilme ihtimali artmaktadır (5).

Yapılan araştırmalarda ve çalışmamızda da oligozoospermi grubunda spermelerde artmış otozom ve cinsiyet kromozom anöploidi oranları gösterilmiştir. Bu grupta yapılacak reproduktif uygulamalara geçmeden önce potansiyel anöploid embriyo ihtimali göz önünde bulundurularak hastalar genetik danışmaya yönlendirilmeli ve gerekli durumlarda preimplantasyon tanı ve prenatal tanı önerilmelidir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kromozom anomalisi ve Y-kromozomu mikrolelesyonu bulunmayan, farklı derecelerde oligozoospermisi bulunan 30 olgu (10 hafif, 11 orta şiddette, 9 şiddetli oligozoospermi) ve 10 normozoospermik olguda sperm kromozom anöploidilerinin ortaya konulması amacıyla FISH analizi yapılmıştır. Analizler sonucunda sperm anöploidi oranının belirlenmesi ve değerlendirilmesi, oligospermi derecesi ile kromozom anöploidi ilişkisinin belirlenmesi, normozoospermi gurubu ile karşılaştırılması ve infertil çiftlerde reproduktif uygulamalara geçmeden önce FISH yönteminin yardımcı tanı yöntemi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Elde edilen veriler literatür ile karşılaştırılıp tartışılmıştır.

### Sonuçlar:

- 1) Çalışmamızda oligozoospermi grubunda normozoospermi grubu ile karşılaştırıldığında spermelerde otozom ve cinsiyet kromozom anöploidi oranlarının arttığını saptadık.
- 2) Orta ve şiddetli oligozoospermik grupta normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında kromozom 13, 18 ve 21 dizomileri için fark bulduk ( $p < 0.001$ ), dizomi frekansının normozoospermik gruba göre arttığını gözlemledik.
- 3) Orta ve şiddetli oligozoospermik grupta normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında cinsiyet kromozom dizomileri için fark bulduk ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.040$ ), dizomi frekansının normozoospermik gruba göre artmış olduğunu gözlemledik.
- 4) Tüm oligozoospermik grupta normozoospermik grup ile karşılaştırıldığında diploidi için fark bulduk ( $p < 0.001$ ), diploidi frekansının normozoospermik gruba göre artmış olduğunu gözlemledik.
- 5) Otozom ve cinsiyet kromozom dizomi ve diploidi frekansı açısından en farklı grubun şiddetli oligozoospermisi bulunan grup olduğunu saptadık.

### Öneriler:

Yapılan çalışmalarda semen parametreleri (sperm konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi) ve sperm anöploidi oranları arasındaki ilişki gösterilmiştir. Yüksek sperm anöploidisi oranı yardımcı üreme teknikleri başarısında negatif bir

parametredir. Anöplöid ve diploid sperm üretimine yatkınlık kromozomal olarak anormal konseptus riskini arttıracaktır. Sonuç olarak bu durum implantasyon başarısızlığı, gebelik kayıplarına ve/veya kromozomal anomalili fetus ve çocukların doğma olasılığının artmasına yol açacaktır. Özellikle yardımcı üreme tekniklerine en çok yönlendirilen olgu grubu olan oligozoospermik erkeklerde sperm anöplöidi oranının belirlenmesinin, reproduktif uygulamalara geçmeden önce yardımcı bir test olarak önerilmesi uygundur. Bu sonuca göre hastalara genetik danışma verilmeli, gerekli durumlarda preimplantasyon tanı ve prenatal tanıya yönlendirilmelidirler.



**KAYNAKLAR**

- 1) Aydos K. Subfertil erkeğin değerlendirilmesi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği; 2004.s.161-74.
- 2) Aydos S. Erkek infertilitesi ve genetik. Türkiye Klinikleri Üroloji Özel Erkek İnfertilitesi Özel Sayısı.2008 1(1):34-40.
- 3) Martin RH, Rademaker AW, Grene C, Ko E, Hoang T, Barclay L, Chernos J. A Comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate and severe oligozoospermia. Biol Reprod. 2003;69:335-9.
- 4) Martin RH. Cytogenetic determinants of male fertility. Hum Reprod. 2008;4:379-90.
- 5) Mehdi M, Smatti B, Saad A, Guerin JF, Benchaib M. Analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) of the relationship between gonosomal aneuploidy and the results of assisted reproduction in men with severe oligozoospermia. Andrologia. 2006;38:137-41.
- 6) Calogero AE, De Palma A, Grazioso C, Barone N, Burrello N, Palermo I, Gulisano A, Pafumi C, D'Agata R. High sperm aneuploidy rate in unselected infertile patients and relationship with intracytoplasmic sperm injection outcom. Hum Reprod. 2001;16:1433-9.
- 7) Tempest HG, Homa ST, Dalakiouridou M, Christopikou, Wright D, Zhai XP, Griffin DK. The association between male infertility and sperm disomy: Evidence for variation in disomy levels among individuals and a correlation between particular semen parametres and disomy of spesific chromosome pairs. Reprod Bio Endocrin. 2004;2:1-9.
- 8) Asada H, Sueoka K, Hashiba T, Kuroshima M, Kobayashi N, Yoshimura Y. The effects of age and abnormal sperm count on the nondisjunction of spermatozoa. J Asist Reprod Genet. 2000;17:51-9.

- 9) Mosher WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Ferti Steril.* 1991;56:192-3.
- 10) Sarıkaya Ş. Genital embriyoloji. TÜYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Ünal Ofset; 2007.s.42-4.
- 11) Park JM. Ürogenital Sistemin Normal ve Anormal Gelişimi. İç: Alan BR, E Darracott V, Alan JW, editörler. Campbell Üroloji. Güneş Kitabevi; 2005.s.1737-64.
- 12) Chung LW, Cunha GR. Stromal-epithelial interactions: II Regulation of prostatic growth by embryonic urogenital sinus mesenchyme. *Prostate.* 1983;4:503-11.
- 13) Cunha GR, Chung LW. Stromal-epithelial interactions: I Induction of prostatic phenotyp in urothelium of testicular feminized (Tfm<sub>y</sub>) mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1981;14:1317-24.
- 14) de Krester DM, Meinhart A, Meehan T, Phillips DJ, O'Bryan MK, Loveland KA. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;161:43-6.
- 15) de Krester DM, Robertson DM. The isolation and physiology of inhibin and related proteins. *Biol Reprod.* 1989;40:33-47
- 16) Clarke IJ, Rao A, Fallest PC, Shupnik MA. Transcription rate of the follicle stimulating hormone (FSH) beta subunit gene is reduced by inhibin in sheep but this does not fully explain the decrease in mRNA. *Mol Cell Endocrinol.* 1993;91:211-6.
- 17) Kolb BA, Stanczyk FZ, Sokol RZ. Serum inhibin B levels in males with gonadal dysfunctin. *Fertil Steril.* 2000;74:234-8.
- 18) Andersson AM, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE. 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 effect of seasons. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:932-7.

- 19) Schlegel PN, Hardy M. Male reproductive physiology. In: Retig AB, Vaughan ED, Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, editörs. Campbell's Urology. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2002. Vol2p.1437-74.
- 20) Lopez FJ, Merchenthaler IJ, Moretto M, Negro-Vilar A. Modulating mechanisms of neuroendocrine cell activity: the LHRH pulse generator. *Cell Mol Neurobiol.* 1998;18:125-46.
- 21) Schlegel PN, Matthew H. Erkek Reprodüktif Fizyolojisi. İç: Alan BR, E Darracott V, Alan JW, editörler. Campbell Üroloji. Güneş Kitabevi; 2005.s.1437-41.
- 22) Mazzi C, Bazonni N, Martinelli I. Evaluation of the pituitary-gonadal axis in men with growth hormone-secreting adenomas: Comparison with non functioning adenomas. *Int J Androl.* 1996;19:42.
- 23) Hayes FJ, Crowley WFJ. Gonadotropin pulsations across development. *Horm Res.* 1988;49:163-8.
- 24) Hayes FJ, De Cruz S, Seminara SB, Boepple PA, Curovley WF Jr. Differential regulation of gonadotropin secretion by testosterone in the human male: absence of a negative feedback effect of testosterone on follicle-stimulating hormone secretion. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:53-8.
- 25) Weinbauer GF, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. Physiology of testicular function. In: Nieschlag E, Behre HM, editors. *Andrology.* 2 th ed. Berlin: Springer; 2000.p.23-61.
- 26) El Gehani F, Zhang FP, Pakarinen P, Rannikko A, Huhtaniemi I. Gonadotropin-independent regulation of steroidogenesis in the fetal rat testis. *Biol Reprod.* 1998;58:116-23.
- 27) Majdic G, Saunders PT, Teerds KJ. Immunoexpression of the steroidogenic enzymes 3-beta hydroxysteroid dehydrogenase and 17 alpha hydroxylase, C17,20 lyase and the receptor for luteinizing hormone (LH) in the fetal rat testis suggests that the onset of Leydig cell steroid production is independent of LH action. *Biol Repod.* 1998;58:520-25.

- 28) Main KM, Schmidt IM, Skakkebaek NE. A possible role for reproductive hormone in newborn boys: progressive hypogonadism without the postnatal testosterone peak. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4905-7.
- 29) Bradtke A. Role of growth hormone and prolactin in the control of reproduction: what are we learning from transgenic and knock-out animals?. *Steroids.* 1999;64:598-604.
- 30) Quinton ND, Smith RF, Clayton PE, Gill MS, Shalet S, Justice SK, Simon SA, Walter S, Prostel-VinayMC, Blackmore AL, Ross RJ. Leptin binding activity changes with age: the link between leptin and puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2336-41.
- 31) Dearth RK, Hiney JK, Dees WL. Leptin acts centrally to induce the prepubertal secretion of luteinizing hormone in the female rat. *Peptides.* 2000;21:387-92.
- 32) Tena-Sempere M, Pinilla L, Gonzalez LC, Casanueva FF, Dieguez C, Aguilar E. Homologous and heterologous down regulation of leptin receptor messenger ribonucleic acid in rat adrenal gland. *J Endocrinol.* 2000;167:479-86.
- 33) Orhan İ. Erkek üreme fizyolojisi. TÜYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Kongre Basımevi; 2006.s.250-2.
- 34) Turner TT, D'Addario D, Howards SS: Further observations on the initiation of sperm motility. *Biol Reprod.*1978;19:1095-101.
- 35) Rowley MJ, Teshima F, Heler CG. Duration of transit of spermatozoa through the human male ductular system. *Fertil Steril.* 1970;21:390.
- 36) Aman RP. A critical review of methods for evaluation of spermatogenesis from seminal characteristics. *J Androl.* 1981;2:37.
- 37) Johnson L, Varner DD. Effect of daily spermatozoan production but not age on transit time of spermatozoa through the human epididymis. *Biol Reprod.* 1988;39:812-7.
- 38) Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. *Histology: A Text and Atlas*, 4th edn, Lippincott Williams-Wilkins, Philadelphia; 2003.p.689-696.

- 39) Barrat CLR: Spermatogenesis. In: Grudzinkas JG, Yovich JL(eds): Gametes-The Spermatozoon. Cambridge, Cambridge University Pres, 1995.p.250-267.
- 40) Cooke HJ, Hargreave T, Eliot DJ. Understanding the genes involved in spermatogenesis: A progress report. *Fertil Steril*. 1998; 69: 989-95.
- 41) Parks JE, Lee DR, Huang S, Kaproth MT. Prospects for spermatogenesis in vitro. *Theriogenology*. 2003; 59: 73-86.
- 42) Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mamals: Seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*. 1972;52:198.
- 43) Trainer TD. Testis and excretory duct system. In: Sternberg SS (ed): *Histology for Pathologists*, 2nd edn. Lippincott-Raven Publishers, Philedelphia, 1997.p.1022-1024.
- 44) Moore KL, Persaud TVN: *The Developing Human*. 6th edn, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, 1998.p.22-23.
- 45) Gartner LP, Hiatt JL: *Color Textbook of Histology*. Pennsylvania, W.B. Saunders Company, 1997.p.406-412.
- 46) Syed V, Hecht NB: Disruption of germ cell-Sertoli cell interactions leads to spermatogenic defects. *Mol Cell Endocrinol (MCE)* 2002. 186: 155-7.
- 47) Niederberger CS, Lamb DJ: Spermatogenesis in the Adult. In: Lipshultz LI, Howards SS (eds), *Infertility in the Male*, 3rd edn. Mosby, St Louis,1997.p.106-122.
- 48) Martins MRFB, Silva JRCP: Ultrastructure of spermatogonia and primary spermatocytes of C57BL6J Mice. *Anat Histol Embryol*. 2001; 30: 129-32.
- 49) Adler ID: Spermatogenesis and mutagenicity of environmental hazards: Extrapolation of genetic risk from mouse to man. *Andrologia*. 2000; 32:233-7.
- 50) Ruiz-Pesini E, Iapena AC, Diez C, Alvarez E, Enriquez JA, Lopez-Perez MJ: Seminal quality correlaets with mitochondrial functionality. *Clinica Chimica Acta*. 2000;300:97-105.
- 51) Başar M. Erkek reproduktif sistem fizyolojisi. *TUYK Ders Notları Kitabı*. Ankara: Ünal Ofset; 2007.s.288-289.

- 52) Aydos K. Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N editörler. Temel Üroloji 3. baskı; Güneş Tıp Kitabevleri; 2007.s.967-969.
- 53) Sairam MR, Krishnamurthy H: The role of Follicle-Stimulating Hormone in spermatogenesis: Lessons from knockout animal models. Arch Med Res. 2001; 32: 601-8.
- 54) Hedger MP, Meinhardt A: Cytokines and immune-testicular axis. J Rep Immunol. 2003; 58:1-26.
- 55) Print CG, Lakoski Loveland K: Germ cell suicide: New insights into apoptosis during spermatogenesis. Bioessays. 2000; 22: 423-30.
- 56) Carreau S, Bourguiba S, Lambard S, Galeraud-Denis I, Genissel C, Bilinska B, Benahmed M, Levallet J: Aromatase expression in male germ cells. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology. 2001; 79:203-8.
- 57) Hipler UC, Hochheim B, Knöll B, Tittelbach J, Schreiber G: Serum inhibin B as a marker for spermatogenesis. Arch Androl. 2001; 46: 217-22.
- 58) Wong WY, Flik G, Groenen PMW, Swinkels DW, Thomas CMG, Copius-Peereboom JHJ, Merkus HMWM, Steegers-Theunissen RPM: The impact of calcium, zinc, and Cooper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. Rep Toxicol. 2001;15: 131-6.
- 59) Frungieri MB, Calandra RS, Lustig L, Meineke V, Köhn FM, Voght HJ, Mayerhofer A: Number, distribution pattern, and identification of macrophages in the testes of infertile men. Fertil Steril. 2002; 78: 298-306.
- 60) Gazvani MR, Wilson EDA, Richmond DH, Howard PJ, Kingsland CR, Lewis-Jones DI: Role of mitotic control in spermatogenesis. Fertil Steril. 2000;74: 251-6.
- 61) Meistrich ML, Wilson G, Shuttlesworth GA, Porter KL: Dibromochloropropane inhibits spermatogonial development in rats. Rep Toxicol. 2003; 5515: 1-9.
- 62) Kayıgil Ö. Erkek infertilitesinde tanı yöntemleri. TÜYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Kongre Basımevi; 2006.s.253-261.

- 63) Aşçı R. İnfertil çiftte erkeğin sorgulanması. Türkiye Klinikleri Üroloji Özel Erkek İnfertilitesi Özel Sayısı. 2008 1(1):1-6.
- 64) Çulha M. Erkek infertilitesinde tanı. TUYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Ünal Ofset; 2007.s.292-296.
- 65) Sigman M, Jonathan P J. Erkek infertilitesi. İç: Alan BR, E Darracott V, Alan JW, editörler. Campbell Üroloji. Güneş Kitabevi; 2005.s.1475-1531.
- 66) Kandıralı E. Semen analizi ve sperm morfolojisi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği; 2004.s.317-323.
- 67) Emir L. Erkek infertilitesinde tanı yöntemleri. TUYK Ders Notları Kitabı; 2008.291-298.
- 68) Arnould A, Scheved JF, Gris JC, Costa P, Navratil H, Hurneau C. Tissue-type plasminogen activator level is decreased in human seminal plasma with abnormal liquefaction. Fertil Steril. 1994;61:741-5.
- 69) Dube JY, Gaudreault D, Tremblay RR. The concentration of immunoreactive prostat spesific antigen is not decreased in viscous semen samples. Andrologia. 1989;21:136-9.
- 70) Syner FN, Moghtsii KS, Yanez J. Isolation of a factor from normal human semen that accelerates dissolution of abnormally liquefying semen. Fertil Steril. 1975;26:1064-9.
- 71) Wilson VB, Bunge RG. Infertility and semen non-liquefaction. J Urol. 1975;113:509-10.
- 72) Amelar RD, Dubin L, Schoenfeld C. Semen analysis: An Office technique. Urology. 1973;2:605-11.
- 73) World health organization 1999.
- 74) Ombelet W, Pollet H, Bosmans E, Vereecken A. Results of questionnaire on sperm morfology assessment. Hum Reprod. 1997;12:1015-20.

- 75) World Health Organization: WHO Laboratory Manuel for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. Cambridge, England, Cambridge University Press, 1999.
- 76) Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lambard CJ, Van der Merwe JP, van Zyl JA, Smith K. Sperm morphology features as a prognostic factor in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1986;46:118-23.
- 77) Aydos K. Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N editörler. *Temel Üroloji* 3. baskı; Güneş Tıp Kitabevleri; 2007.s.989-990.
- 78) Pavlovich CP, King P, Goldstein M, Schlegel PN. Evidence of a treatable endocrinopathy in infertile men. *J Urol*. 2001;165:837-41.
- 79) Aydos K. Subfertil erkeğin değerlendirilmesi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. *Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği*; 2004.s.170-171.
- 80) Jarrow JP. Transrectal ultrasonography of infertile men. *Fertil Steril*. 1993; 60:1035-9.
- 81) Aydos K. Subfertil erkeğin değerlendirilmesi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. *Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği*; 2004.s.171-172.
- 82) Turek PJ, Cha I, Ljung BM. Systematic fine-needle aspiration of the testis: correlation to biopsy and results of organ 'mapping' for mature sperm in azoospermic men. *Urology*. 1997;49:743-8.
- 83) Levin HS: Testicular biopsy in the study of male infertility. Its current usefulness, histologic techniques, and prospects for the future. *Hum Pathol* 1979;10:569.
- 84) Kefi A, Esen A. Testis biopsisi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. *Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği*; 2004.s.238-239.



- 85) Aydos K. Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N editörler. Temel Üroloji 3. baskı; Güneş Tıp Kitabevleri; 2007.s.992.
- 86) De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studys in male infertility: a review. Hum Reprod. 1991;6:245-50.
- 87) Pryor JL, Kent-First M, Muallem A, Van Bergen AH, Nolten WE, Meisner L, Roberts KP. Microdeletions in the Y chromosome of infertile men. N Engl J Med. 1997;336:534-9.
- 88) Özgök Y. İnfertilite tedavisi . TUYK Ders Notları Kitabı; 2008.s.299-305.
- 89) Çayan S. Erkek infertilitesinde medikal ve cerrahi tedavi. TÜYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Kongre Basımevi; 2006.s.262-263.
- 90) Aydos K. Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N editörler. Temel Üroloji 3. baskı; Güneş Tıp Kitabevleri; 2007.s.993-994.
- 91) Biri H. Erkek infertilitesinde medikal ve cerrahi tedavi. TUYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Ünal Ofset; 2007.s.297-298.
- 92) Semerci B. Erkek infertilitesinin spesifik medikal tedavisi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği; 2004.s.396-401.
- 93) Jarow JP. Nonsurgical treatment of male infertility: Emprical therapy. In: Lipshultz LI, Howards SS (eds): Infertility in the Male, 2 nd Edition. St Louis, Mosby-Year Book, 1991, pp.
- 94) Charny CW, Gordon JA. Testosterone rebound therapy: A neglected modality. Fertil Steril. 1978;29:64-8.
- 95) Lamensdorf H, Compere D, Begley G. Testosterone rebound therapy in the treatment or male infertility. Fertil Steril. 1975;26:469-72.
- 96) Wang C, Dahl KD, Leung A, Chan SY, Hsueh AJ. Serum bioaktive follicle-stimulating hormone in men with idiopatic azoospermia and oligospermia. J Clin Endocrinol Metab. 1987;65:627-33.

- 97) Acosta AA, Khalifa E, Oehninger S. Pure human follicle stimulating hormone has a role in the treatment of severe male infertility by assisted reproduction: Norfolk's total experience. *Hum Reprod.* 1992;7:1067-72.
- 98) Vigersky RA, Glass AR. Effects of delta-1-testolactone on the pituitari-testicular axis in oligospermic men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;52:897-902.
- 99) Göğüş O. Ampirik medikal tedavi. İç: Özdiler E, Aydos K(ed). *Klinik Androloji.* Ankara Üniversitesi Basımevi. 2000, pp.597-612.
- 100) Schill WB. Treatment of idiopathic oligozoospermia by kallikrein: Results of double-blind study. *Arch Androl.* 1979;2:163-70.
- 101) Homonai ZT, Shilon M, Paz G. Evaluation of semen quality following kallikrein treatment. *Jinecol Obstet Invest.* 1978;9:132-8.
- 102) Keck C, Behre HM, Jockenhovel F. Ineffectiveness of kallikrein in treatment of idiopathic male in fertility: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Hum Reprod.* 1994;9:325-9.
- 103) Bozkırlı İ. Erkek İnfertilitesi. Bozkırlı İ(eds), *Yeni Üroloji.* Türk hava kurumu basımevi, Ankara. 1999,pp583-602.
- 104) Bozkırlı İ, Tunç L. Erkek İnfertilitesinde Ampirik Medikal Tedavi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. *Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği;* 2004.s.410.
- 105) Aparicio NJ, Schwarzstein L, Turner EA, Turner D, Mancini R, Schally AV. Treatment of idiopathic normogonadotropic oligoasthenospermia with syntetic lüteinizing hormone-releasing hormone. *Fertil Steril.* 1976;27:549-52.
- 106) Dubin L, Amelar RD. Varicocelectomy as therapy in male infertility: A study of 504 cases. *J Urol.* 1975;113:640-1.
- 107) Willis KC, London DR, Bevis MA. Hormonale effects of tamoxifen in oligospermic men. *J Endocrinol.* 1977;73:171-4.

- 108) Barkay J, Harpas-Kerpel S, Ben-Ezra S, Gordon S, Zuckermann H. The prostoglandin inhibitor effect of anti-inflammatory drugs in the therapy or male infertility. *Fertil Steril*. 1984;42:406-11.
- 109) Cohen MS, Colin MJ, Golimbu M. The effects of prostoglandins on sperm motility. *Fertil Steril*. 1977;28:78-85.
- 110) Tesarik J, Thebault A, Testart J. Effect of pentoxifilline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens. *Hum Reprod*. 1992;7:1257-63.
- 111) Oktar T, Ahmedov İ, Kadioğlu A. Varikosel Tedavisi. İç: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman Ö, Usta MF, Kendrici M, editörler. *Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi: Türk Androloji Derneği*; 2004.s.463.
- 112) Aydos K. Erkeğin üremeye yardımcı teknikler için hazırlanması. *Türkiye Klinikleri Üroloji Özel Erkek İnfertilitesi Özel Sayısı*.2008 1(1):57-66.
- 113) Centers for Disease Control and Prevention 2000.
- 114) Aydos K. Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N editörler. *Temel Üroloji 3. baskı; Güneş Tıp Kitabevleri*; 2007.s.1001-1003.
- 115) Gardner RJM, Sutherland GR. Reproductive Failure. In: *Chromosome abnormalities and genetic counselling 3rd edn.*, New York:Oxford University Press;2004.pp.339-349.
- 116) Wyrobek AJ, Schimd TE, Marchetti F. Cross species sperm-FISH assay for chemical testing and assessing paternal risk for chromosomally abnormal pregnancies. *Environ Mol Mutagen*. 2005;45:271-83.
- 117) Pang MG, Hoegerman SF, Cuticcia AJ, Moon SY, Doncel GF, Acosta AA, Kearns WG. Detection of aneuploidy for chromosomes 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 17, 18, 21, X and Y by fluoresecence in-situ hybridization in spermatozoa from nine patients with oligoasthenoteratozoospermia undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*.1999;14:1266-73.

- 118) Durak B. Normal ve Translokasyon Taşıyıcısı Erkeklerin Spermiumlarında FISH ile Kromozom Analizi. Tıbbi Genetik Bilim Dalı Doktora Tezi. Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 1998.
- 119) Kirkpatrick G, Ferguson KA, Gao H, Tang S, Chow V, Yuen BH, Ma S. A comparison of sperm aneuploidy rates between infertile men with normal and abnormal karyotypes. *Hum Reprod.* 2008;23:1679-83.
- 120) Shi Q, Martin RH. Aneuploidy in human spermatozoa: FISH analysis in men with constitutional chromosomal abnormalities, and in infertile men. *Reproduction.* 2001;121:655-66.
- 121) Vegetti W, Van Assche E, Frias A, Verheyen G, Bianchi MM, Bonduelle M, Liebaers I, Van Steirteghem A. Correlation between semen parameters and sperm aneuploidy rates investigated by fluorescence in-situ hybridization in infertile men. *Hum Reprod.* 2000;15:351-65.
- 122) Schmid TE, Brinkworth MH, Hill F, Solter E, Kamischke A, Marchetti F, Nieschlag E, Wyrobek AJ. Detection of structural and numerical chromosomal abnormalities by ACM-FISH analysis in sperm of oligozoospermic infertility patients. *Hum Reprod.* 2004;19:1395-400.
- 123) Gianaroli L, Magli MC, Cavallini G, Crippa A, Nadalini M, Bernardini L, Fabris GFM, Voliani S, Ferraretti AP. Frequency of aneuploidy in sperm from patients with extremely severe male factor infertility. *Hum Reprod.* 2005;38:2140-52.