ICSI UYGULANAN ÜREMEYE YARDIMCI TEDAVİ (ÜYTE) SİKLUSLARINDA EŞİ KRİPTOZOOSPERMİK/ŞİDDETLİ OLİGOZOOSPERMİK HASTALARIN NORMOSPERMİK OLANLARLA GEBELİK ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Seçkin Yalçınkaya
171503104

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof.Dr. Mehmet Cıncık

İstanbul
T.C. Maltepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Haziran, 2019

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

SEÇKİN YALÇINKAYA'ın "ICSI Uygulanan Üremeye Yardımcı Tedavi (ÜYTE) Sikluslarında Eşi Kriptozoospermik/Şiddetli Oligozoospermik Hastaların Normospermik Olanlarla Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması" başlıklı tezi 18.06.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği" nin ilgili maddeleri uyarınca Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans/Doktora tezi oy birliğiyle/oy çokluğuyla, başarılı/başarısız olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı. Adı ve Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	Prof. Dr. Mehmet CINCIK	.....
Üye	Prof. Dr. Özgür DUNDAR	.....
Üye	Prof. Dr. Ümit ÖZEKİCİ	.....

Prof. Dr. Zeliha ÖZER
Enstitü Müdürü

Revizyon Takip Tablosu

REVİZYON NO	TARİH	AÇIKLAMA
00	01.03.2018	İlk yayın.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

18/06/2019

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarından bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilmeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; çalışmanın Maltepe Üniversitesinde kullanılan "bilimsel intihal tespit programı" ile tarandığını ve öngörülen standartları karşıladığını beyan ederim.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

(Islak İmza)
Seçkin Yalçınkaya

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimi boyunca bilgisini, birikimini ve deneyimlerini bizlerle paylaşan, her koşulda yanımızda olan değerli ve saygın bilim insanı Prof. Dr. Mehmet Cıncık'a saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Ders ve tez dönemlerimde yardım ve desteklerinden dolayı Hale Bayram'a ve Ulus Liv Hospital Tüp Bebek Merkezi ekibine çok teşekkür ediyorum.

Bölüme başlamamda beni cesaretlendiren ve teşvik eden canım anneme minnettarım. Meslek ve eğitim hayatım boyunca bana inanan, güvenen, destek olan varlığıyla bana güç katan melek kalpli canım ablam Ender Yalçınkaya Kalyan'a sonsuz teşekkür ederim.

Seçkin Yalçınkaya

Haziran 2019

ÖZ

ICSI UYGULANAN ÜREMEYE YARDIMCI TEDAVİ (ÜYTE) SİKLUSLARINDA EŞİ KRİPTOZOOSPERMİK/ŞİDDETLİ OLİGOZOOSPERMİK HASTALARIN NORMOSPERMİK OLANLARLA GEBELİK ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Seçkin Yalçınkaya
Yüksek Lisans Tezi
Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019

Düşük semen kalitesi erkek infertilitesinin ana nedenidir. Özellikle kriptozoospermik ve şiddetli oligozoospermik vakalar için yardımcı üreme tekniklerinden intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygun bir tedavi yöntemidir. Bu uygulama sperm sayısının önemini azaltmış gözüksede laboratuar ve klinik sonuçları açısından değerlendirilmeye ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın amacı bir subgrup olarak kriptozoospermik ve şiddetli oligozoospermik erkek infertilitesi tanıları nedeniyle intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulanan hastaların laboratuvar, gebelik ve canlı doğum sonuçlarını sperm parametreleri normal olanlar ile retrospektif olarak karşılaştırmaktır. Söz konusu vakalarda, Dünya Sağlık Örgütü'ne göre kriptozoospermi taze preperatlarda sperm olmamasına karşın santrifüj sonrası pelletin mikroskobik incelenmesiyle sperm görülmesidir. Ancak Dünya Sağlık Örgütü şiddetli oligozoospermi ile ilgili bir tanımlama yapmamış olmakla birlikte çoğu araştırmacılar şiddetli oligozoospermiyi; sperm sayısının 5 milyon/ml'nin altında olması şeklinde değerlendirmiştir.

Çalışmanın örneklemini 2010-2018 yılları arasında Acıbadem Altunizade Hastanesi Tüp Bebek ve Üreme Sağlığı Merkezine başvurmuş 185 hasta oluşturdu. Çalışmaya dahil edilen hastalar sperm konsantrasyonuna göre; kriptozoospermi, şiddetli oligozoospermi ve normospermi olmak üzere üç gruba ayrıldı. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında fertilizasyon, embriyo gelişimi, gebelik oranları, klinik gebelik oranları ve canlı doğum oranları açısından anlamlı bir fark görülmedi. Çalışma sonunda sperm faktörünün laboratuvar ve klinik sonuçları üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, Şiddetli oligozoospermi, Gebelik.

ABSTRACT

COMPARISON OF PREGNANCY RATES BETWEEN CRYPTOZOOSPERMIC/SEVERE OLIGOZOOSPERMIC AND NORMOSPERMIC MEN IN ICSI CYCLES

Seçkin Yalçınkaya
Master Thesis
Department of Clinical Embryology
Clinical Embryology Programme
Thesis Advisor: Prof. Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe University Health Sciences Institute Graduate School, 2019

Low semen quality is the main cause of male infertility. Intracytoplasmic sperm injection is an appropriate treatment method especially for cryptozoospermic and severe oligozoospermic cases. Although its application has reduced the importance of sperm counts, there is a need to evaluate laboratory and clinical outcomes. The aim of this study was to compare the laboratory and clinical outcomes of patients, who underwent intracytoplasmic sperm injection, retrospectively including a subgroup analysis with cryptozoospermic and severe oligozoospermic cases.

Cryptozoospermia is defined as the occurrence of sperm cells in the pellet following centrifugation despite the absence of sperm cells in the fresh preparations according to World Health Organization. However, although there is no exact definition of severe oligozoospermia by World Health Organization, most investigators have evaluated severe oligozoospermia as sperm count of less than 5 million / ml.

The sample of the study consisted of 185 patients that admitted to the Assisted Reproductive Health Center of Acıbadem Altunizade Hospital between 2010-2018. Patients were enrolled in the study according to sperm concentration; they were classified as cryptozoospermia, severe oligozoospermia and normospermia. As a result of the statistical analysis, no significant differences were observed between the groups in terms of fertilization, embryo development, pregnancy rates, clinical pregnancy rates and live birth rates. At the end of the study, it was concluded that sperm factor had no significant effect on laboratory and clinical results.

Keywords: Intracytoplasmic sperm injection, Severe oligospermia, Pregnancy.

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI……ii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI……iii
TEŞEKKÜR……iv
ÖZ……v
ABSTRACT……vi
İÇİNDEKİLER……...vii
TABLOLAR LİSTESİ……ix
ŞEKİLLER LİSTESİ……x
KISALTMALAR……xi
ÖZGEÇMİŞ……...xii
BÖLÜM 1. GİRİŞ……1
1.1 Problem ……..…2
1.2. Amaç……..2
1.3. Önem……..2
1.4. Varsayımlar……3
1.5. Sınırlıklar……...4
BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER……...5
2.1. Erkek Üreme Sistemi ve Biyolojisi …….....5
2.1.1. Sertoli Hücreleri …….....7
2.1.2. Leydig Hücreleri ……....7
2.1.3. Spermatogenez ……..…….....8
2.1.4. Spermiyogenez ……...9
2.2. Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri……11
2.3. Kadın İnfertilitesi ve Nedenleri……12
2.4. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi……...13
2.4.1. Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi……16
2.4.1.1. Semen Analizi……..…..……..…….16
2.4.1.2. Semen Analizinde Özel ve İlave Testler…….……..…….21
2.5. Yardımcı Üreme Teknikleri …….……..……..22

BÖLÜM 3. YÖNTEM ……..…….……..……26
3.1. Araştırma Modeli ……26
3.2. Evren ve Örneklem……...……....26
3.3. Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması……...……...…..….26
3.4. Veriler ve Toplanması……..27
BÖLÜM 4. BULGULAR VE YORUMLAR……..29
BÖLÜM 5. SONUÇ……36
5.1. Özet……...……36
5.2. Yargı…….36
5.3. Öneriler…….37
EK'LER……...38
KAYNAKÇA…….....39

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1 İnfertil çiftlerde araştırma öncesi optimal bekleme süreleri ….....14

Tablo 2. Kadın faktörü incelemesinde hikaye ve fizik muayene ……...15

Tablo 3. Erkek faktörü incelemesinde hikaye ve fizik muayene ……...15

Tablo 4. WHO 2010 semen analizi referans değerleri ……...17

Tablo 5 Hastaların demografik özellikleri …….……29

Tablo 6. Embriyoloji laboratuvarı sonuçları ……...……...31

Tablo 7. Klinik sonuçlar ……..……...33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Leydig hücreleri ..……...6

Şekil 2. Sertoli hücreleri …….....6

Şekil 3. Spermatogenez ……...…8

Şekil 4. Spermiyogenez evreleri …….10

Şekil 5. Spermiyogenez ve olgun spermatozoa……10

KISALTMALAR

YÜT : Yardımcı Üreme Teknikleri

IVF : İn Vitro Fertilizasyon

IUI : İntrauterin İnseminasyon

ICSI : İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

OAT : Oligoastenoteratozoospermi

TESE : Testiküler Sperm Ekstraksiyonu

DNA : Deoksiribo Nükleik Asit

AMF : Anti Müllerian Faktör

ABP : Androjen Bağlayıcı Protein

LH : Luteinize Edici Hormon

PID : Pelvik İnflamatuar Hastalık

FSH : Folikül Stimülan Hormon

SER : Subendoplazmik Retikulum

OPU : Oosit Toplama

HSG : Histerosalpingografi

MAR : Mikst Antiglobin Reaksiyonu

IBT : Immunobead Test

ÖZGEÇMİŞ

Seçkin Yalçınkaya

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Eğitim

Derece	*Yıl*	*Üniversite, Enstitü, Anabilim/Anasanat Dalı*
Y.Ls.	2019	Maltepe Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü Klinik Embriyoloji Programı
Ls.	2010	Ege Üniversitesi, Biyoloji
Lise	2005	Kartal Anadolu Lisesi

İş/İstihdam

Yıl	*Görev*
2019 -	*Biyolog. Özel İstanbul Adatıp Hastanesi*
2018-2019	*Biyolog. Özel Ulus Liv Hospital*
2012-2017	*Biyolog. Eurofertil Tüp Bebek Merkezi*

Kişisel Bilgiler

Doğum yeri ve yılı : Kartal, 1985 Cinsiyet: Erkek

Yabancı diller : İngilizce

GSM / e-posta : 05378860793 / seckinyalcinkaya@hotmail.com

BÖLÜM 1.GİRİŞ

İnfertilite, üreme çağındaki bir çiftin bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edememesidir. Daha önce gebelik olmamışsa primer infertilite, en az bir gebelik yaşanmışsa (canlı doğum ile sonuçlansın veya sonuçlanmasın) sekonder infertilite olarak tanımlanır (Vayene vd., 2002; Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2008). İnfertilitenin reprodüktif çağdaki çiftlerin yaklaşık % 10-15'ini etkileyen bir faktör olduğu bilinmektedir (Garenne ve Frish, 1994). İnfertilite, üreme çağındaki her altı çiftten bir tanesinin sorunu olduğu düşünüldüğünde yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) milyonlarca çifte hitap ettiği daha iyi anlaşılır (Barbarie, 2004; Rutherford vd., 1999). 1978'de in vitro fertilizasyon (IVF) ile elde edilen ilk canlı doğumun ardından yardımcı üreme teknikleri pratikte kullanılmaya başlanmıştır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılan tedavi teknikleri; intrauterin inseminasyon (IUI), klasik IVF ve ICSI'dir (Palermo vd., 1992). Günümüzde IVF, dünyada çocuk sahibi olamayan milyonlarca infertil çift için ebeveyn olma hayallerini gerçekleştirme yolunda önemli bir imkan sağlamıştır.

İnfertilite çiftlerde %30-40 erkeğe bağlı, %40-50 kadına bağlı, %10-15 erkek ve kadın ilişkili, %10-15 bilinmeyen (açıklanamayan infertilite) nedenlerden meydana gelir (Gomel vd., 1993).

Sonuç olarak infertil vakaların yaklaşık % 50'sinde erkek faktörü mevcuttur. Özellikle şiddetli erkek infertilitesinde yüksek başarıdan dolayı ICSI, klasik IVF'e göre tercih edilmektedir (Aytoz vd., 1998; Loutradi vd., 2006). ICSI uygulaması, in vivo şartlarında spermin kadın genital kanallarında geçmesi gereken birçok bariyeri by-pass etmekle, in vitro uygulamasında oosite doğrudan sperm enjekte edildiğinden sayının önemini azaltmış görünmektedir. ICSI uygulamalarında şiddetli oligozoospermi ile normozoospermi vakalarında fertilizasyon ve embriyo elde etme açısından bir farklılık yoktur. Sayı az da olsa çok da olsa yeterli sayıda fertilizasyon ve yeterli sayıda embriyo elde edilmektedir. Ancak, gebelik açısından bir fark var mıdır? sorusu henüz aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada ICSI uygulanan sikluslarda farklı erkek faktörlerinden kriptozoospermi ya da şiddetli oligozoosperminin gebelik sonucunda etkili olup olmadığını göstermeye çalıştık.

1.1.Problem

Erkek faktörler tüm infertilite nedenlerinin yarısını oluştururlar. Semen parametreleri erkek infertilitesiyle doğrudan ilişkilidir. Klinik olarak semen kalitesi; sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisini içerir. Bu parametreler subfertil ve infertil erkeğin belirlenmesinde kullanılır (Agarwal vd., 2015; Hirsh, 2003; Tremellen, 2008). Son yıllarda yapılan çalışmalar semen kalitesinin düştüğüne işaret etmektedir (Huang vd., 2017; Rolland vd., 2012; Wang vd., 2017). Bu sebeble WHO 2010 yılında daha önce belirlemiş olduğu semen parametreleri referans değerlerinde değişikliğe gitmiştir (Cooper vd., 2010). Düşük semen kalitesi erkek faktörünün ana sebebidir. Özellikle OAT tanısı anormal semen kalitesinde yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır (Hirsh, 2003). Sperm sayısının çok düşük olduğu durumlarda kriptozoospermi ve şiddetli oligozoospermiden bahsedilir. WHO'ya göre kriptozoospermi taze preperatlarda sperm olmamasına karşın santrifüj sonrası pelletin mikroskobik incelenmesiyle sperm görülmesidir (WHO Laboratory Manual). Ancak WHO şiddetli oligozoospermi le ilgili bir tanımlama yapmamıştır. Bu durum ne yazık ki literatürde araştırmacılar tarafından şiddetli oligozoosperminin farklı ele alınmasına neden olmaktadır. Bazı araştırmacılar şiddetli oligozoospermiyi; sperm sayısının 5 milyon/ml'nin altında olması şeklinde değerlendirmiştir (Yang vd., 2018; Usta vd., 2016; Mazzilli vd., 2017).

1.2.Amaç

Bu çalışma ICSI uygulanan sikluslarda bir subgrup olarak kriptozoospermik ve şiddetli oligozoospermik erkek faktörü tanılarının laboratuar ve klinik sonuçlar üzerinde etkilerini karşılaştırmak amacıyla retrospektif olarak yapılmıştır.

1.3.Önem

İstedikleri halde çocuk sahibi olamayan çiftler için durum oldukça zordur. Çünkü infertilite tanı ve tedavisi; yorucu, yıpratıcı, zaman, emek ve paraya mal olan bir süreçtir. Doğru tanı ve tedavide başarılı sonuçlar elde etmek için kişiye özgü tedavi planları gereklidir. Konvansiyonel IVF ile tedavi edilemeyen şiddetli erkek faktöründe ICSI tekniği uygun bir tedavi yöntemi olarak gözükse de, kriptozoospermik ve şiddetli oligozoospermiklerin laboratuar ve klinik açıdan yönetimi oldukça zordur. Bu hasta grubunda tedavide başarılı olmak için hastaların çok iyi değerlendirilmesi gereklidir. Özellikle ejakulatındaki sperm sayısı çok sınırlı olan kriptozoospermik hastalar

azospermik olarak değerlendirilebilmektedir. Bu durum hastaların invazif bir cerrahi yöntemi olan TESE işlemine maruz kalmalarına neden olabilmekte; bunun sonucu olarak da hem maddi hem de manevi sıkıntılarla karşılaşılabilmektedir. Bu tarz hastalarda uygulanan TESE operasyonlarının başarılı olabilmesi operasyonu yapan cerrahın ve sperm hücrelerini kontrol eden laboratuvarın yeterliliğine bağlıdır. Kriptozoospermik hastalarda başarısız geçen bir TESE operasyonu sonrasında sperm bulunamama durumuyla ve testislerdeki sınırlı üretim bölgesinin dönüşü olmayacak bir şekilde zarar görmesine ve hastanın azospermik hale gelmesine neden olabilir. Bu nedenle kriptozoospermik hastaların herhangi bir tedaviye başlamadan önce iyi değerlendirilmesi ve daha iyi sonuçlar elde etmek adına erken dönemde ICSI tedavisine yönlendirilmesi önemli görülmektedir. Çalışmamıza benzer retrospektif analizler kriptozoospermik ve şiddetli oligozoospermik hastalarda elde edilen gebelik sonuçlarını somut olarak görüp bu hastaların tedavi öncesi ön değerlendirmesinin önemini göstermektedir.

1.4.Varsayımlar

Literatürde; sperm sayısı, motilite ve morfolojisinin gebeliğe birlikte etkisini araştıran çalışmalar vardır. Sınırlı sayıdaki bu çalışmalarda sperm sayısının tek başına ne kadar önemli olduğu yorumlanamamaktadır. Bu çalışmamız bunun tek başına etkisini anlamaya yöneliktir. Dolayısıyla hipotezimiz aşağıda belirtilen sorular ekseninde şekillenmiştir.

1. Şiddetli oligozoospermi gebeliği etkilemekte midir?
2. Kriptozoospermi gebeliği etkilmekte midir?
3. Şiddetli oligozoospermi ve kriptozoospermi açısından gebelikte bir fark var mıdır?
4. Bu iki grup normozoospermiklerle karşılaştırıldığında ortaya nasıl bir sonuç çıkmaktadır?
5. Eğer bir fark varsa, tedavi stratejilerinde bir değişiklik ön görülecek midir?

1.5.Sınırlıklar

Tezimizin konusu prospektif çalışmaya uygun değildir. Çünkü hastalar farklı periyotlarda geldiğinden yeterli hasta sayısına ulaşmak gebelik süreleri de göz önüne alındığında en az üç yıla yayılacağından yüksek lisans tez dönemini aşacaktır. Bu durum bizi sınırlamıştır. Bu nedenle düzenli arşiv taranarak retrospektif çalışmak daha uygun görülmüştür.

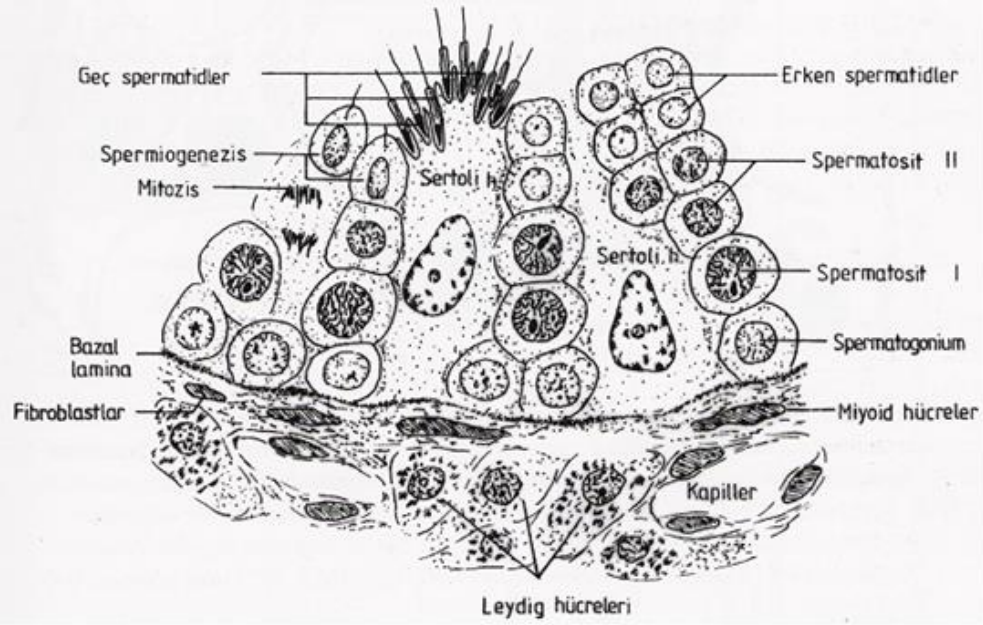
BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1.Erkek Üreme Sistemi ve Biyolojisi

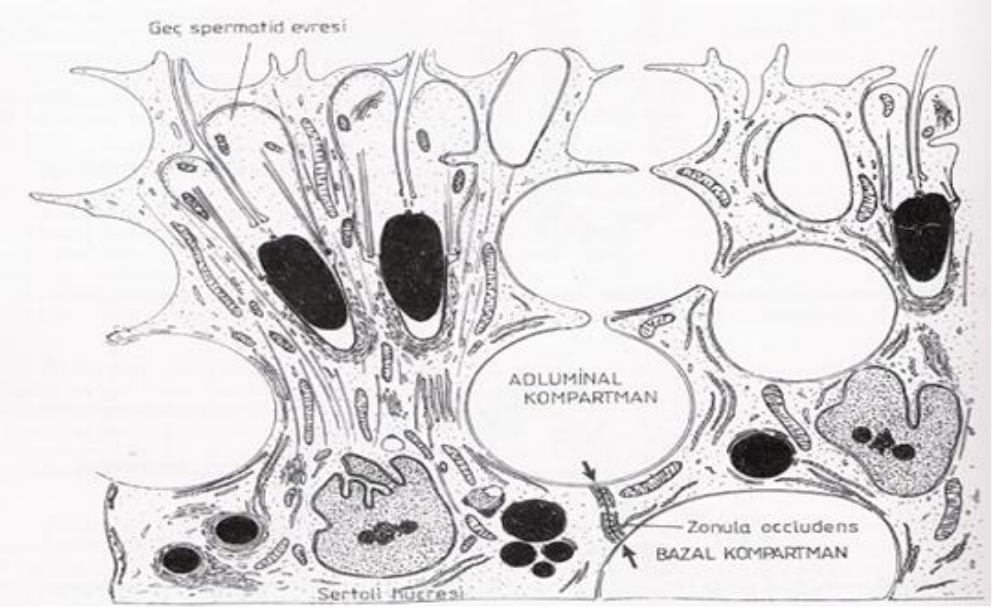
Erkek ve dişide henüz farklılaşmamış gonadlar mezodermden oluşurlar. Mezoderm, erkek fetusta testisin somatik yapılarına dönüşür. Gonadın erkek yönünde farklılaşması Y kromozomundaki DNA dizisinin ekspresyonu ve varlığı ile belirlenir. Farklılaşmamış fetal gonadların testis ve ovaryumlara dönüşmesine primer seks farklılaşması, Müller ve Wolff kanal sistemlerinin gelişim süreçlerine ise sekonder seks farklılaşması denir. Erkeklerde fetal testisten salgılanan hormonlar, Müller ve Wolff kanallarının ve ürogenital sinusun doğru bir şekilde ve zamanında farklılaşmasından sorumludur. Sertoli hücreleri Anti-Mülleriyan Faktör (AMF) adı verilen bir protein üreterek Müller kanalının gerilemesine neden olur. Leydig hücreleri ise testosteron üretirler. Testosteron, ürogenital sinusun büyümesini ve prostatın periferal bölgesine farklılaşmasını; Wolff kanallarının da prostatın santral bölgesi, epididimis vas deferans ve veziküla seminalise dönüşmesini stimüle eder (Burns, 1961; Wilson, 1981; Wilson, 1978).

Erkek genital sistemi; bir çift gonad (testisler), genital boşaltma yolları (tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes, duktus epididimis, duktus deferens, duktus ejakülatorius, üretra), aksesuar bezler (prostat, vezikula seminalis, glandula bulboüretralis) ve penisden oluşmaktadır. Testisler dış karın boşluğunda skrotum içinde yer alır. Testisler, gametlerin (sperm hücresi, spermatozoa, spermiyum) meydana getirilmesi (gametogenezis, spermatogenezis) ve steroid yapıdaki hormonların üretilip salgılanması (steroidogenezis) fonksiyonlarını gerçekleştiren bir çift organdır. Testislerden üretilen sperm hücreleri dış genital kanallar yardımıyla penise taşınmaktadır. Prostat bezi, bulboüretral bezler ve seminal veziküller yardımcı genital bezlerdir. Testislerin içerisinde seminifer tübül adı verilen yapılar vardır. Seminifer tübüller kompleks, çok katlı epitelyum örtüyle çevrili olup iki grup hücre içerir: Sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücreler. Spermatogenez bu tübülusların lümeninde gerçekleşir (Williams, 1995; Hai, 2014).

Seminifer tübüller bazaldan lümen doğru sırasıyla spermatogonuimları, spermatosit 1, spermatosit 2 ve spermatitleri içerir. Bu hücrelerin arasında şekilsiz sertoli hücreleri vardır. İnterstisyel alanda ise Leydig hücreleri bulunur.



Şekil 1.Leydig hücreleri(http://www.biyolojigunlugu.com/forum//index.php?/topic/1800/)



Şekil 2. Sertoli hücreleri (http://www.biyolojigunlugu.com/forum//index.php?/topic/1800/)

2.1.1. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri seminifer tübüllerin bazal membranından lümene kadar uzanırlar. Üçgen veya oval biçimli, büyük ve ökromatik özelliklere sahip destek hücreleridir. Puberteden sonra çoğalma göstermeyen, salgı yapmaya özelleşmiş hücrelerdir. Çoğalma aşamalarına göre bazalden lümene sıralanırlar. Birbirlerine sitoplazmik uzantılarını gönderip aralarında sıkı bağlantılar kurarlar. Spermatogenetik hücreler bu uzantıların arasında yerleşmişlerdir. Bu sertoli hücrelerinin arasında oluşan bağlantı kompleksleri aynı zamanda kan-testis bariyerinin oluşmasını da sağlar. (Means vd., 1976).

Sertoli hücreleri fonksiyonları:

1. Eşey hücreleri için gerekli besini ve fiziksel desteği sağlamak.
2. Sitoplazmik artıkları fagosite eder.
3. Birbirleriyle yaptıkları sıkı bağlantılarla spermatogenetik hücreleri koruyarak kandaki savunma hücrelerin otoimmünitesinden korurlar (kan-testis bariyeri).
4. ABP ve inhibin salgılar.
5. AMH ile embriyogenezisde ovaryum oluşmasını engeller.
6. Lümene verilen früktozdan hücrelerin beslenmesini sağlar.
7. Testiküler transferrin salgılar. Spermlerin demir ihtiyacını karşılar.
8. Lümene seminifer tübül sıvısı salgılarlar. Bu sıvı, tübül lümenindeki spermlerin epididimise geçişini sağlarlar.

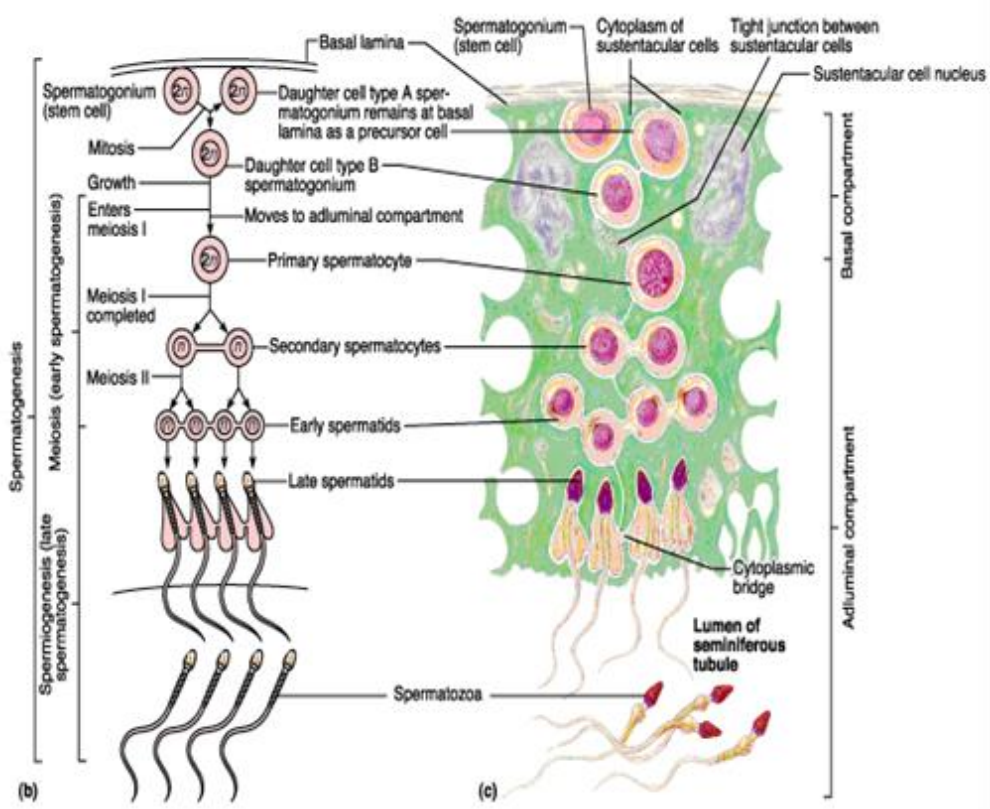
2.1.2. Leydig Hücreleri

İnterstisyel alanda bulunurlar. Leydig hücreleri SER, lipit ve tübüler kristali mitokondri yapılarından oluşur. Leydig hücreleri fetüste işlevini beşinci aydan itibaren durdururlar. Puberte ile beraber işlevlerine tekrar başlayarak ömür boyu faaliyet gösterirler. Testislerin endokrin işlevi Leydig hücreleri tarafından yürütülür. Leydig hücreleri testosteron üretirler. Testosteron ise hipofizin ön lobundan salgılanan LH'nın stimulasyon veya inhibisyonundan sorumludur (Knobil ve Neill, 1998).

2.1.3. Spermatogenez

Spermatogenez; erkek germ hücrelerinin oluşmasını, sayılarının artmasını ve olgun spermatozoalara dönüşmesini sağlayan bir süreçtir. Bu süreç, tek sıra Sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücrelerle çevrili, uzun, tübüler bir yapı olan seminifer tübüllerde gerçekleşir. Spermatogenezis sürecinde, farklılaşmamış spermatogonialar özelleşmiş testiküler spermatozoalara evrimleşirler. Embriyonik ve fetal gelişim döneminde spermatogonium hücreleri primordial germ hücrelerinden köken alırlar (Sadler, 1985). Yeni doğan bir erkek çocuğunda seminifer tübüller, germinal epitelden köken alan sertoli hücreleri ve daha az olmak üzere spermatogonialarla çevrilidir. Spermatogoniumlar puberteye kadar dinlenme halinde kalırlar. Puberte ile beraber spermatogenez başlar ve hızı azalarak yaşlılığın son dönemlerine kadar sürebilir. Spermatogenez üç evrede gerçekleşir:

1. Spermatositogenez
2. Mayoz bölünme
3. Spermiyogenez



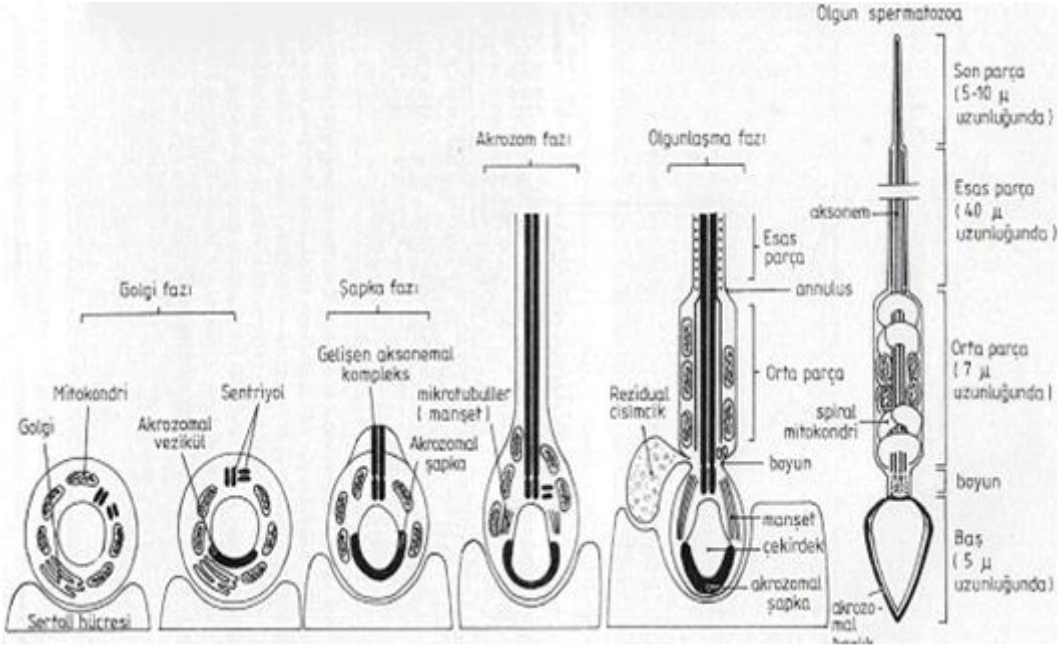
Şekil 3. Spermatogenez
(http://www.biyolojigunlugu.com/forum//index.php?/topic/1798/)

Spermatogenetik ana hücre olan spermatogoniumlar sırasıyla koyu tip A, açık tip A ve B tipi spermatogoniumlara dönüşürler. Spermatogenezisin devamının sağlanması için bir kısım spermatogoniumlar mitoz bölünme ile sayıların artırarak kaynak hücre görevi görürler.

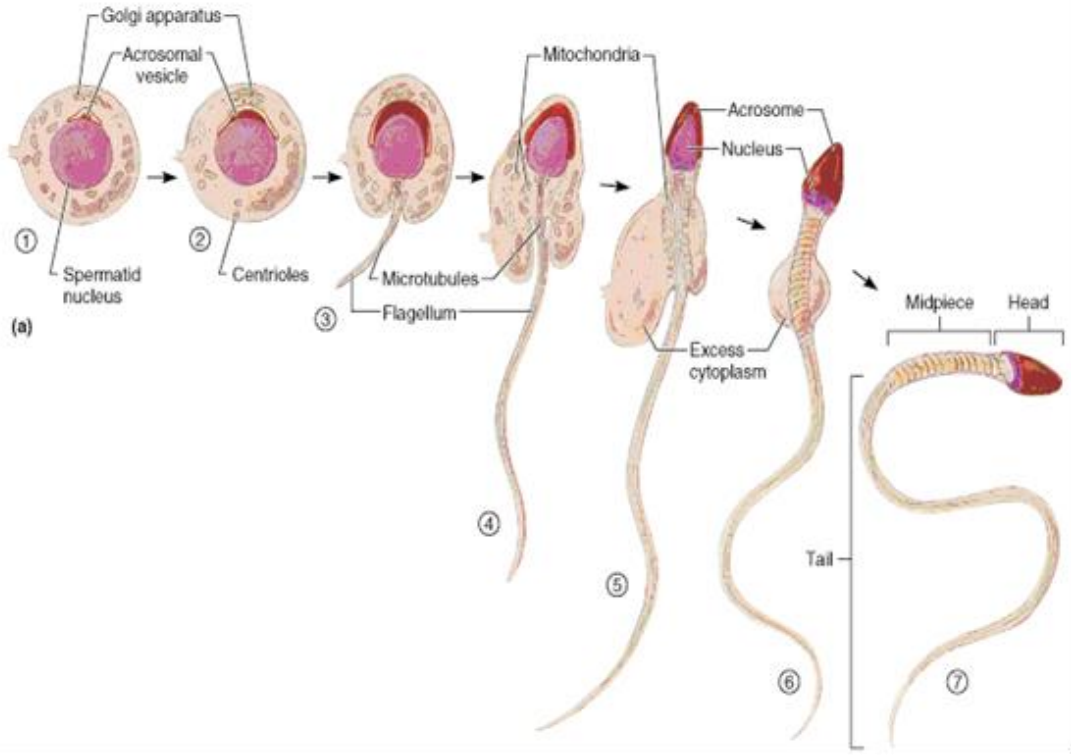
Spermatogonium B mitoz bölünme geçirerek primer spermatositleri meydana getirirler. Primer spermatositler en büyük hücre olma özelliğiyle seminifer tübüllerde ayırt edilirler. Primer spermatositler 1. Mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositler 2. Mayoza girerek spermatidlere dönüşürler. Daha sonra spermiyogenez başlar (Kretzer vd., 1998).

2.1.4. Spermiyogenez

Spermiyogenez; spermatidlerin spermatozoalara olgunlaşma sürecidir. Mayoz bölünmelerle oluşan spermatidler halen yapısal olarak farklılaşmamış spermatogonialara benzerler. Spermatidlerden oldukça özelleşmiş, hareketli spermatozoaların üretimi hücresel yapıların paketlenmesini gerektirir. Bu sürece spermiyogenezis adı verilir. Spermiyogenez golgi, başlık (şapka), akrozom ve maturasyon (olgunlaşma) evresi olmak üzere dört evrede gerçekleşir (Grudzinskas ve Yovich, 1988). Spermiyogenezisde spermlerde sitozolün büyük bir bölümü ve spermin genetik bilgisini oosite aktarmada işlev görmeyen tüm organeller çıkarılır. Spermiyogenezis sonucunda şekillenen olgun spermatozoa dört bölümden oluşur. Bunlar; baş, akrozom, orta parça (midpiece) ve kuyruk bölümleridir. Baş, spermin genetik bilgisini içeren nukleustan oluşur. Akrozom, enzimle dolu bir veziküldür ve başın ucunda nukleusun ön kısmında yer alır. Oosite girmek için enzimatik matkap olarak işlevi gören akrozom, endoplazmik retikulum ve golgi kompleksinden oluşur. Spermin hareketini sağlayan kuyruk ise sentriyollerin birinden gelişir. Kuyruğun hareketi, spermin boyun kısmındaki mitokondriden sağlanan enerji ile mikrotübüllerin birbiri üzerine kayması ile gelişir (Fawcett, 1975; Clermont, 1972).



Şekil 4 Spermiyogenez evreleri
(http://www.biyolojigunlugu.com/forum//index.php?/topic/1799/)



Şekil 5 Spermiyogenez ve olgun spermatozoa
(http://www.biyolojigunlugu.com/forum//index.php?/topic/1799/)

2.2. Erkek İnfertilitesi ve Nedenleri

İnfertil çiftler arasında erkek faktörü yaklaşık %50 gibi yüksek bir oranda görülmektedir. İnfertil erkeğin değerlendirilmesi kadın partnerle aynı anda yapılmalıdır. Klinik araştırma sırasında erkek sistemik bir şekilde incelenmelidir (WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertil Male, 2000). Erkek infertilitesinin nedenleri anatomik olarak üç ana başlık altında toplanabilir:

1. Pretestiküler nedenler:

- Kromozomal
- Hormonal
- Koital

2. Testiküler nedenler:

- İnmemiş testis, immotil silia, vas deferens yokluğu (konjenital)
- Orşitis
- Varikosel
- Kemoterapi, Radyoterapi
- İmmünolojik tümör
- İdiyopatik

3. Posttestiküler nedenler:

- Obstrüktif
- Yardımcı bez (aksesuar) enfeksiyonları

2.3. Kadın İnfertilitesi ve Nedenleri

1) Ovulatuar Faktörler:

Ovulatör faktörler kadın infertilitesinin %30-40'ını oluştururlar. Çeşitli patolojik bozukluklar şeklinde ortaya çıkarlar. Örneğin; folikülün gelişim göstermemesi, ovulasyonun olmayışı, yetersiz lüteinizasyon, folikülün reptüre olmasına rağmen oositin atılamaması, folikülde matürasyon bozukluğuna bağlı atrezi gelişmesi ovulatuar bozukluklar arasında gösterilebilir. İnfertil kadının ovulatör olup olmadığı belirlenmelidir (Vermesh vd., 1987). Ovulasyon tespitinde kullanılan tüm testler ovulasyonun indirekt belirteçlerini saptayarak çalışır. Ovulasyonun tespitinde kullanılan yöntemler şunlardır:

- Menstürel öykü.
- Serum progesteron ölçümleri.
- Bazal vücut ısısı.
- LH ölçümleri.
- Endometriumdan biyopsi alınması.
- Ultrasonografi.

2) Peritoneal ve Tubal Faktörler:

Kadın infertilitesinin %30-35'ini oluştururlar. Tubal patolojilerin değerlendirilmesinde HSG, histeroskopi, sonohisterografi ve laparoskopi yöntemleri kullanılabilir. HSG ile hem tubal geçiş hem de uterin kavite değerlendirilebilir. Ayrıca klinik kullanımı sınırlı olsa da Klamidya antikorunu testi (KAT) tubal patolojilerin tespitinde kullanılabilir. Peritoneal faktörlerle ilişkili peritondaki adhezyonlar ve endometriozis sıklıkla infertiliteye yol açabilmektedir (Ahinko-Hakamaa vd., 2007; Lim vd., 2011).

3) Servikal Faktör:

Servikal faktörler nadir infertilite nedenlerindendir. Servikal faktör değerlendirilmesi; servikal mukus incelenmesi, post koital test ve anti sperm antikorların araştırılması sadece gerekli vakalarda kullanılmaktadır. Rutin infertilite araştırmasında önerilmemektedir (Griffith ve Grimes, 1990; Oei, 1998).

4) Uterin Faktör:

Uterin faktör patolojilerini; kongenital uterin anomalileri, uterin yapışıklıklar, myom ve endometrial polipler oluşturur. Uterusun anatomik ve fonksiyonel anomalileri infertilitenin sık olmayan nedenlerini oluşturmaktadır. Histeroskopi, HSG, transvaginal ultrasonografi ile sonohisterografi uterin faktörlerin tanı ve tedavisinde kullanılan yöntemlerdir (Soares vd., 2000; Salle vd., 1999).

5) Açıklanamayan İnfertilite:

Açıklanamayan infertilite, konvansiyonel tetkiklerle sebebi tespit edilemeyen ve infertil çiftlerin %10-15'inde görülen bir durumdur. İnfertilite nedenleri tespit edilemediği için bu hasta grubunun tedavisinde kullanılan yöntemler nedeni ortadan kaldırmak yerine fertiliteyi artırmak amaçlanmaktadır. Açıklanamayan infertilite olgularında; ekspekten tedavi, klomifen sitrat, gonatropin ile overyan hiperstimulasyon, intrauterin inseminasyon ve in vitro fertilizasyon gibi yardımcı üreme teknikleri sıklıkla kullanılmaktadır (Rousseau vd., 1983; Templeton ve Penney, 1982).

2.4. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

Genç çiftlerde infertilite araştırması için bekleme süresi daha uzun olabilir. Kadın yaşının 35'in üzerinde olduğu durumlarda veya öykü ve fizik muayenesinde infertilite ile ilgili ek bulgular varsa araştırmalar daha erken başlatılabilir (Zinaman vd., 1996; Wilcox vd., 1995). İnfertil çift değerlendirme öncesi optimal bekleme süreleri tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. İnfertil çiftlerde araştırma öncesi optimal bekleme süreleri

12 ay	6 ay	Hemen
< 35 yaş	> 35	> 40 yaş
Ek bulgu yok	Ek bulgu yok	Menstrül düzensizlik Seksüel disfonksiyon Pelvik inflamasyon hastalıklar Endometriosis Kemoterapi ve/veya Radyoterapi Şüpheli erkek faktörü Geçirilmiş genital cerrahi (erkek ve kadın için)

İnfertilite araştırmalarına kadın ve erkekte beraber başlanılmalıdır. İlk olarak infertil çiftte kapsamlı öykünün alınmalıdır. Tablo 2 ve tablo 3'te kadın ve erkek araştırmalarında hikaye ve fizik muayene sırasında kontrol edilmesi gereken bulgular gösterilmiştir.

Tablo 2. Kadın faktörü incelemesinde hikaye ve fizik muayene

Hikaye	Fizik muayene
İnfertilite süresi Menstrüel düzen Koit sıklığı Seksüel disfonksiyon Galaktore Hirsutizm PID öyküsü Alkol ve sigara kullanımı	Boy ve kilo(vücut kitle indeksi) Tiroid bezi değerlendirmesi Meme özelliklerin değerlendirmesi Transvajinal USG ile muayene

Tablo 3. Erkek faktörü incelemesinde hikaye ve fizik muayene

Hikaye	Fizik muayene
İnfertilite süresi Koit sıklığı Seksüel disfonksiyon Geçirilmiş hastalık öyküsü Seksüel yolla bulaşan hastalıklar Kronik hastalıklar ve alerjiler İlaç ve steroid kullanımı Alkol ve sigara kullanımı	Testis ve penis muayenesi Varikosel kontrolü Vücut duruşu Kıl dağılımı Meme kontrolü

Kadının yaşı infertilite açısından anamnezde sorgulamak çok önemlidir. İlerleyen yaşla beraber over rezervi, overlerin tedaviye yanıtı ve tedavi başarısı etkilenmektedir.

20-29 yaşlardaki kadında infertilite oranı %10'un altındayken, bu oran 40-45 yaşlarında %95'e varmaktadır. İnfertilite süresi ve infertilitenin primer veya sekonder olması anamnezde sorgulanır. Daha önce term gebelik veya düşük hikayesi kadın genital organları hakkında bilgi verecektir. Buna ilave olarak gebelik veya düşük sırasında yaşanan komplikasyonlar da infertilite nedeni olabilirler. Adet düzeni, kadının mevcut hormonal durumu over rezervi ve endometrium hakkında bilgi verir. Düzensiz adet görme, hirsutizm, akne ve vazomotor şikayetlerinin olması sorgulanır. Kadın ve erkeğin sigara içiciliği fertiliteyi olumsuz etkileyebilir. Hastaların boy ve kilosu ölçülür. Obezite ve özellikle polikistik over sendromlu hastalarda folikülogenezis ve folikül maturasyonunda sorunlar olmakta ve bunun sonucu hastaların yaklaşık yarısında anovulasyona bağlı infertilite problemleri oluşmaktadır. Jinekolojik muayenede vajinal akıntı, servikal hassasiyet olup olmadığına bakılır (The Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2000).

2.4.1 Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi anamnez, fizik muayene ve semen örneğinin laboratuvarda incelenmesi aşamalarını içermektedir. Erkek faktörü incelemesinde; anamnezde daha önce semen analizi yaptırıp yaptırmadığı, kronik hastalık varlığı, seksüel ve erektil disfonksiyon varlığı, sigara ve alkol tüketimi, cinsel ilişki sıklığı ve zamanlaması sorgulanmalıdır. Testislerle ilgili bir operasyon geçirip geçirmediği sorulmalıdır. Detaylı hikaye alınıp fizik muayene yapıldıktan sonra erkek infertilitesi araştırmasında laboratuvar incelemesinde ilk basamak olan spermiyogram (semen analizi) testinin yapılmasıdır (Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine, 2015).

2.4.1.1 Semen Analizi

Spermiyogram testi erkek faktörü araştırmasında önemli bir parametredir. Semen analizi erkekte 2-7 günlük abstinans süresinde 15 gün ara ile en az iki kez yapılmalıdır. Çalışma koşulları ve çevresel şartların analiz sonuçlarını etkilemesi açısından standardizeyi sağlayabilmek için semen örneği uygun şartlarda özel odalarda verilmelidir. Ejakulat; poliester, steril, ağzı geniş ve kapaklı numune toplama kablarına alınmalıdır.

Ejakulat masturbasyon yoluyla hastadan alınır. Masturbasyon işlemi öncesinde eller sabun veya el dezenfaktanı kullanılarak temizlenir. İşlem sırasında sabun ve kayganlaştırıcı gibi ürünlerin kullanılmaması gerektiği konusunda hasta bilgilendirilir. Semen örneği bir saat içerisinde incelenmelidir (Aydos, 2007). Semen analizi WHO 2010 referans değerleri kullanılarak yapılır. Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. WHO 2010 semen analizi referans değerleri.

Parametre	Alt referans limiti
Semen volümü (ml)	1.5 ml
Total sperm sayısı (milyon/ejekülat)	39 (milyon/ejekülat)
Sperm konsantrasyonu (milyon/ml)	15 (milyon/mL)
Total motilite (PR+NP,%)	40 (%)
Progressive motilite (PR,%)	32 (%)
Vitalite (canlı spermler,%)	58 (canlı sperm, %)
Sperm morfolojisi (normal formlar,%)	4 (normal formlar, %)
pH	≥7.2
Peroksidaz-pozitif lökosit	<1.0 (milyon / ml
MAR testi (patiküllere bağlı hareketli spermler, %)	<50 (%)
Immunobead testi (boncukların bağlandığı hareketli spermler, %)	<50 (%)
Seminal çinko	≥2.4 (µmol/ejakülat)
Seminal fruktoz	≥13 (µmol/ejakülat)
Seminal nötral glukozidaz	≥20 (mU/ejakülat)

Semen örneğinin analizi makroskobik ve mikroskobik olarak incelenir. Semenin makroskobik incelemesinde; görünümü, volümü, Ph'sı, likefaksiyon süresi ve viskozitesi değerlendiririlir. Ejakulatın görünümü normalde homojen, opak, beyaz renktedir. Ejakulatın eritrosit içermesi halinde kırmızı veya kahve rengimsi, uzayan cinsel perhiz süresi ve enfeksiyon durumlarında sarı, azospermi veya antibiyotik kullanımında şeffaf açık renk görünümünde olabilir. WHO'ya göre semen örneğinin volümü 1,5 ml dir.

Semen miktarının 1 ml'nin altında olduğu durumlarda; ejalukatın steril örnek kabları yerine dışarı aktarıldığı, retrograd ejakulasyon ve distal kanal anamolileri akla gelmelidir. Seminal sıvı %7 epididimal, %15-20 prostat bezi, %3-5 üretral bezlerin ve %70-80 vezikula seminalis salgılarından oluşmaktadır (Çulha, 2007). Ejakulatın normal pH'sının 7,2-8 arasında olması beklenir. Değerlendirmenin geç yapılması durumunda seminal plazmanın salgıladığı karbondioksit sebebiyle pH yükselebilir. Ölçülen pH değerinin sekizin üzerine çıkması akut enfeksiyonları düşündürür. Azospermi, boşaltım kanallarının obstrüksiyonu ve aksesuar bezlerin agenezi olgularında pH 7'nin altında ölçülür (De Jonge vd., 2004). Normalde semenin çok az miktarda viskoz olması beklenir ama kronik enfeksiyonlarda viskozite artabilir. Ejakulasyonu takiben 5-40 dakika sonra önce koagüle daha sonra likefiye olur. Koagülasyonda veziküla seminalisten üretilen proteinokinaz enzimi, likefaksiyondan ise prostat ve cowper bezinin salgılarındaki proteolitik enzimler görev alır (Gökçe, 2011).

Ejakulatın mikroskobik incelenmesi analizin en önemli kısmını oluşturmaktadır. Mikroskobik analizde spermin sayısı, hareketliliği, morfolojisi, sperm dışı hücrelerin (yuvarlak hücre, lökosit vs.) sayısı ve varsa aglütinasyon incelenip değerlendirilir. Sperm sayımında hemositometre, CellUV, microcell, Standart Count ve Makler gibi çeşitli kameralar kullanılmaktadır. Günümüzde birçok laboratuvarda rutin olarak Makler sayım kamerası kullanılmaktadır. Makler kamerası on satır ve on sütun olmak üzere toplam yüz karelik alandan oluşmaktadır. Bu her bir kare alanının içerisine giren spermler sayılarak değerlendirme yapılır. Doğru bir sayım için en az on karede değerlendirme yapılır ve bulunan sayı milyon cinsinden ifade edilerek sayı belirlenir. Sayımda hata yapmamak için Makler kameraya konulan ejakulat hacminin on mikrolitreyi geçmemesine ve hava kabarcığının oluşmamasına dikkat edilmelidir. Sperm konsantrasyonu 1 ml'deki sperm sayısıdır. Toplam sperm sayısı ise bütün ejakulattaki sperm sayısıdır. Bazı durumlarda sperm sayısı yanlış değerlendirilebilir. Örneğin; uzayan cinsel perhiz sürelerinde, spinal kord zedelenmesi olanlarda elektroejakulasyonla, androjen yetersizliği ve retrograd ejakulasyon alınan örneklerde sperm sayımı için doğru sonuçlara ulaşılamayabilir (Delilbaşı, 2008).

Semen analizinde sperm motilitesinin değerlendirilmesi diğer bir aşamadır. Hareketlilik; sperm kuyruk anatomisi ve fonksiyonel bütünlüğüne, enerji

mekanizmalarının yeterliliğine, ısı ve süre gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Motilite değerlendirilmesinin likefaksiyondan sonra yarım saat ila bir saat içerisinde yapılması tercih edilir.

Motilite:

- Hızlı doğrusal progresif hareket
- Yavaş doğrusal ya da doğrusal olmayan hareket
- Progresif olmayan (yerinde) hareket
- Hareketsiz

  olmak üzere dört kategoride sınıflandırılır.

Ejakulatta incelenen diğer bir parametrede spermin yapısal özelliklerinin değerlendirildiği morfolojik sınıflandırmadır. İnceleme WHO Laboratory Manual kitabında belirtilen Kruger Stric kriterlerine göre yapılır. Diff-Quick, Papanicolaou ve Shorr gibi çeşitli boyama yöntemleri kullanılarak hazırlanan preparatların x100 büyütmeli fazkontrast mikroskop ile immersiyon yağı kullanılarak incelenmesi sonucu spermin baş, boyun ve kuyruk yapısı değerlendirilir (Kruger vd., 1986).

Ejakulatta ölü sperm sayısının arttığı durumlarda sperm vitalitesine (canlılığı) bakılır. Burada amaç hareketsiz spermlerin canlı olup olmadığının kontrol edilmesidir. Sperm membran bütünlüğünün kontrolü esasına dayanır. Bunun için iki yöntem uygulanmaktadır. Eosin ve/veya eosin-nigrosin boyama yöntemi ve hipoozmotik şişme (HOS) testidir. Boya yöntemi kullanılarak defekt membrana sahip olan spermler boyayı içine almasıyla canlı spermler ise boyayı tutmama özelliğiyle ayırt edilir. HOS testinde ise hipotonik ortamda sadece sağlam membranlara sahip spermlerin şişeceği ilkesine dayanarak canlı spermler seçilir (De Kretser, 1997).

Dünya Sağlık Örgütü, semen analizi değişkenleri terminolojisini aşağıdaki gibi tanımlamıştır (Bozkırlı, 1999):

1. Normozoospermi: Alt referans limitlerine eşit veya yüksek toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu), ileriye doğru hareketli ve morfolojik olarak normal spermatozoa yüzdeleri.

2. Oligozoospermi: Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu).
3. Aspermi: Semen yok (retrograd ejakulasyon var veya yok).
4. Hipospermi: Meni volümünün normalden az olmasıdır.
5. Hiperspermi: Meni hacminin normalden fazla olmasıdır.
6. Hematospermi: Ejakulatta eritrositlerin varlığı.
7. Azospermi: Ejakulatta hiç sperm yok.
8. Kriptozoospermi: Taze preparatlarda sperm olmamasına rağmen santrifüjlenmiş pellette gözlenir.
9. Astenozoospermi: İleri hareketli spermlerin yüzdesi alt referans limitin altında.
10. Teratozoospermi: Alt referans limitinden düşük yüzdede morfolojik olarak normal spermler.
11. Astenoteratozoospermi: Hem ileri hareketli spermlerin hemde morfolojik olarak normal sperm yüzdesi alt referans limitlerinden düşük
12. Oligoastenozoospermi: Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu) ve ileri hareketli spermatozoa yüzdesi .
13. Oligoastenoteratozoospermi: Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu), hem ileri hareketli hem de morfolojik olarak normal spermlerin yüzdesi.
14. Oligoteratozoospermi: Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu) ve morfolojik olarak normal spermlerin yüzdesi.
15. Nekrozoospermi: Ejakulatta düşük yüzdede canlı ve yüksek yüzdede cansız spermler.

2.4.1.2 Semen Analizinde Özel ve İlave Testler

Bu testler, infertil erkeğin rutin değerlendirilmesinde kullanılmazlar. Özellikle semen analizi anormal sonuçlar gösteren infertil erkekte detaylı incelenme için uygulanır. Bu testlerin klinik değeri semen analizi ile tanımlanamayan sperm fonksiyonlarındaki yetersizliği gösterebilmeleridir.

Endokrin değerlendirme: Başlangıç testi FSH ve serum testosteron ölçümüdür. Testosteron düşük ise total ve serbest testosteron (bioavailable testosteron) tekrarlanır, LH ve prolaktin düzeyleri bakılır. Aralarındaki bağlantı hastanın hormonal durumunu belirlemeye yardımcı olur (Schlegel ve Girardi, 1997).

Radyolojik değerlendirme:

1. Transrektal ultrasonografi
2. Skrotal ultrasonografi
3. Vazografi

Ejakulasyon sonrası idrar analizi : Semen hacminin 1 ml'inin altında ya da aspermi durumlarında retrograd ejakulasyonu değerlendirmek için ejakulasyon sonrası idrar örneğinin incelenmesidir.

Sperm antikorları: Subfertil erkeklerin yaklaşık % 4-8'inde bulunurlar. Semen analizinde aglütinasyon varlığı sperm otoimmünitesine işaret eder. Sperm yüzey antikorlarını saptayan, MAR veya IBT ile teyit edilmelidir. Spermatozooların %50'den fazlası kaplıysa klinik olarak önem taşırlar (Gatimel vd., 2018).

Sperm vitalite testi: Semen analizinde hareketsiz olarak değerlendirilen spermlerin tümünün vital olmadığı düşünülmemelidir. Bu nedenle özellikle yüksek oranda hareketsiz sperm içeren örneklerde boyama teknikleri ve hipo osmotik şişme testi sperm canlılığının değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemlerdir. Nekrozoospermi olgularında sperm vitalitesini test etmek amacıyla kullanılır (Eliasson ve Treschl, 1971).

Hipoosmotik şişme testi: Sperm membran bütünlüğünün tayini amacıyla tanımlanmış olan hipo-osmotik swelling (HOST) testi; hipo-osmotik ortama alınan sperm hücrelerinin, hücre içerisine giren su nedeniyle şişmesi sonucunda volümünde artış ve özellikle kuyruk bölümünde düzleşme ve şişmenin saptanması esasına dayanır. Günümüzde özellikle ciddi astenozoospermik örneklerde ya da testiküler sperm

örneklerindeki canlı sperm oranının belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Enginsu vd., 1992).

Semen biyokimyası: En sık kullanılan seminal vesikül fonksiyonunu gösteren fruktoz testidir. Fruktoz miktarının az veya hiç olmaması vasa deferens ve seminal vesiküllerin konjenital yokluğu veya ejakulatuvar duktus obstrüksiyonunda görülür. Epididimlerin obstrüksiyonunda ise semen fruktoz miktarı normaldir (Cooper vd., 1990).

Semen kültürü: Semen örneğinde enfeksiyonu düşündürecek bulgular (özellikle lökospermi) bulunan erkeklerde enfeksiyon varlığını göstermek amacıyla yapılan bir testtir (Purvis ve Chiristiansen, 1993).

Genetik Testler: Azospermi ve şiddetli oligozoospermi vakalarında genetik bozukluklar, sperm yapımını bozarak veya spermin taşınması sırasında engel teşkil ederek erkekte infertiliteye sebeb olabilir. Erkek infertilitesinin genetik sebebleri arasında; Y kromozomu mikrodelesyonları, kistik fibroz gen mutasyonları, kromozom anomalileri ve sperm fonksiyonlarını etkileyen genetik sendromlar sayılabilir. En sık rastlanan karyotip anomalisi ise Klinefelter sendromudur. Şiddetli oligozoospermik ve/veya azospermik vakaların %10-15'inde ise Y kromozomu mikrodelesyonu rastlanır. Sperm kromatin bütünlüğünü ve sperm fonksiyonunu ölçmek için, sperm kromatin yapısının flow sitometrik incelenmesi testi geliştirilmiştir. Benzer şekilde DNA fragmantasyonu da sperm nükleer bütünlüğünü ölçmede kullanılmıştır. DNA kırıklarının saptanması için halosperm yönteminde; spermler asit ile denatüre edilir ve nuklear proteinlerin çıkmasından sonra gelişen halo değerlendirilir. TUNEL test ise DNA'da tek ve çift sarmal kırıklıklarının saptanması amacıyla kullanılır (Kent-First vd., 1999; Everson vd., 2007).

2.5. Yardımcı Üreme Teknikleri

1978'de ilk tüp bebeğin doğumu, dünyayı sarsan bir haber olmakla kalmamış, aynı zamanda üreme endokrinoloji ve infertilite tedavilerinin yaygınlaşması ve gelişmesi için bir başlangıç olmuştur. Günümüzde Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezlerinde (ÜYTEM) YÜT; klasik ya da konvansiyonel IVF/ET uygulamaları, IUI ve ICSI infertilite tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Van Steirteghem vd., 1993).

Klasik İn Vitro fertilizasyon (IVF):

Klasik IVF/ET uygulamaları; oositler ile yıkanarak belirli konsantrasyona getirilen sperm süspansiyonunun laboratuvar ortamında bir araya getirilerek, spermlerin kendi yetenekleri ile oositleri döllemesi ve ardından embriyoner gelişim izlendikten sonra iyi kalitedeki embriyoların transferini ifade eder. İn vitro fertilizasyon ve embriyo transferinin ilk ve klasik endikasyonu tubal faktördür. Bu nedenler hidrosalpinks veya ağır tüp hasarı olan ve rekonstrüktif tubal cerrahi girişiminden fayda göremeyen veya göremeyecek olan kadınların gebe kalma olasılığı hemen hemen hiç olmadığından doğrudan IVF uygulaması önerilmektedir. Yine yoğun pelvik yapışıklıklara ve endometriozise bağlı infertilite olgularında cerrahi girişimler sonrası gebelik elde edilemediğinde, immünolojik infertilite, erkek subfertilitesi ve açıklanamayan infertilite olgularında da klasik IVF başvurulacak tedavi seçeneklerinden biridir (Sigman, 1994). Klasik IVF'in çözüm üretemediği özellikle şiddetli erkek infertilitesi vakalarında mikromanipülasyon teknikleri gelişerek konvensiyonel IVF uygulamalarını geri planda bırakmıştır. Birçok türde ön çalışmaları yapıldıktan sonra insan gametlerine de uygulanabilen, fertilizasyonun sağlanmasına yönelik üç grup mikromanipülasyon tekniği geliştirilmiştir (Van Steirteghem, 2002):

1. Parsiyel Zona Disseksiyonu (PZD): Çeşitli yöntemlerle zona pellusidada bir açıklık meydana getirildikten sonra oositin klasik IVF'deki gibi insemine edilmesidir. Bu yöntem zona pellusidadaki açıklığın, spermin oosite ulaşmasına yardımcı olacağı düşüncesiyle geliştirilmiştir.

2. Subzonal İnseminasyon (SUZI): Spermlerin zona pellusidayı aşmak zorunda kalmadığı bu teknikte spermler ince pipetlerle doğrudan perivitellin boşluğa bırakılır.

3. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI): Spermin mekanik yolla doğrudan oosit sitoplazmasına bırakılmasıdır.

İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI):

ICSI teknolojisindeki gelişmeler erkek infertilitesinde çığır açmıştır. ICSI ile ilgili ilk çalışmalar 1962 yılına dayanmaktadır. ICSI ilk kez 1962'de Hiramato ve arkadaşları

tarafından spermde nükleer dekondasyon ve erkek pronükleus oluşumunu göstermek amacıyla memeli olmayan deniz dikeni gametlerinde denenmiştir. İnsan oositlerine ilk ICSI uygulaması ise 1988 yılında Lanzerdorf ve arkadaşları tarafından yapılmış ancak embriyo transferine gidilememiştir. ICSI uygulaması sonucu ilk gebelik 1992 yılında Palermo ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Fertilizasyon ve gebelik oranlarında yüksek başarısından dolayı özellikle erkek faktörü başta olmak üzere infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Palermo vd., 1992; Tıraş ve Aybar, 2006; American Society for Reproductive Medicine, 2001).

ICSI endikasyonları:

- Şiddetli oligo-asteno-teratozoospermi vakaları
- Azospermi vakaları
- Tekrarlayan konvensiyonel IVF/ET başarısızlıkları
- Ejakulatuar disfonksiyon hastalıklar
- Yüksek titrede antisperm antikorlar
- Nekrozoospermi, polispermi ve globozoospermi
- Over rezervi düşük olan hastalar
- İmmotil silia sendromu
- Kriptozoospermi

Şiddetli erkek infertilitesine çözüm olarak geliştirilen ICSI'nın testiküler spermlerle de kullanılabileceği gündeme gelmiştir. Epidimal veya testiküler spermlerin kullanıldığı ICSI uygulamalarında fertilizasyon ve embriyoner gelişim gözlenmiş ve bunların transferiyle gebelikler bildirilmiştir. Obstrüktif azospermide, epididimisden cerrahi yöntemlerle aspire edilen spermlerin ICSI'de kullanılabileceği ilk kez Silber ve arkadaşları ve Tournaye ve arkadaşları tarafından gösterilmiş ve yöntem MESA(Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration) olarak isimlendirilmiştir. Schoysman ve arkadaşları ise testiküler spermlerin mikroenjeksiyonu ile gebelik elde etmişlerdir. Testislerden sperm elde edilmesi de TESE (Testicular Sperm Extraction) olarak literatüre geçmiştir. Böylece obstrüktif ve non-obstrüktif azospermi tanısı alan bireylerden elde edilen spermlerle ICSI uygulaması rutin kullanıma girmiştir (Shirivastav vd., 1994; Craft ve Tsirigotis, 1995).

İntrauterin İnseminasyon (IUI) :

Uygun sperm hazırlama metoduyla yıkanmış spermlerin, bir kanül (kateter) yardımıyla uterus içine verilmesi işlemine intrauterin inseminasyon denilmektedir. IUI; açıklanamayan infertilite, hafif-orta erkek faktör infertilitesi, ovulator disfonksiyon, hafif endometriozis ve servikal faktör infertilite vakalarında sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Allen vd., 1985). İntrauterin inseminasyonda progresif hareketli sperm elde etmek için; semen içerisindeki seminal plazma, ölü ve hareketsiz sperm ve sperm dışı hücreleri ayrıştırmak için özel yıkama aşamalarından geçirilmektedir. Ucuz ve basit bir yöntem olması ve nispeten en az invazif yardımcı üreme tekniği yöntemlerinden biri olması en önemli avantajlarından birileridir.

BÖLÜM 3. YÖNTEM

3.1.Araştırma Modeli

Araştırmamız retrospektif bir çalışmadır.

3.2.Evren ve Örneklem

Çalışmanın evrenini 2010-2018 yılları arasında Acıbadem Altunizade Hastanesi Tüp Bebek ve Üreme Sağlığı Merkezine başvuran ve ICSI uygulanan tüm hastalar oluşturdu.

Çalışmanın standardize edilebilmesi için:

- Kadın yaşı <35 olan
- M2 oosit sayısı >5 olan
- Blastokist transferi yapılan
- ICSI uygulanan
- Kriptozoospermik
- Şiddetli Oligozoospermik
- Normozoospermik

hastalar dahil edildi. PGD vakaları ve hastaların M1 oositlerinden gelişen embriyoları çalışmadan dışlandı. Bu kriterlere uyan 185 hasta çalışmanın örneklemini oluşturdu. Çalışmamızda;

- Kriptozoospermi <1 milyon/ml,
- Şiddetli Oligozoospermi ≥1 ve <5 milyon/ml arası
- Normozoospermi ≥15 milyon/ml şeklinde tanımlandı.

Belirlenen kriterlere göre, kriptozoospermi (grup 1, n=27), şiddetli oligozoospermi (grup 2, n=58) ve normozoospermi (grup 3, n=100) olmak üzere hastalar üç gruba ayrıldı.

3.3. Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması

Verilerin analizi için SPSS version 20.0 (Statistical Package of Social Sciences) kullanıldı. Çalışma gruplarının demografik özellikleri tanımlayıcı istatistiksel metodlardan; ortalama ve standart sapma değerleri kullanılarak belirtildi. Nicel verilerin analizinde nonparametrik, üç ve daha fazla grubun karşılaştırılmasında kullanılan Kruskal Wallis testi, istatistiksel farkı göstermek için kullanıldı. Nitel verilerin analizinde ise ki-kare testi kullanıldı. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde $p<0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

3.4. Veriler ve Toplanması

Veriler Acıbadem Altunizade Hastanesi Tüp Bebek ve Üreme Sağlığı Merkezinin hasta veritabanı kullanılarak toplanmıştır. Olgu seçim kriterlerimize uygun olarak taranan veriler neticesinde toplam 185 hastanın bilgileri değerlendirildi. Hasta verileri demografik özellikler, embriyoloji laboratuarı sonuçları ve klinik sonuçları olmak üzere üç ana başlık altında toplandı. Demografik özellikler için kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi ve vücut kitle indeksi, antral folikül sayıları ve uygulanan total FSH dozu parametreleri kontrol edildi.

Klinik değerlendirilmesi yapılan infertil çiftten kadın partnerin Kontrollü Ovaryan Stimülasyonu için GnRH antagonist protokolu kullanılarak foliküler gelişimleri sağlanmıştır. Ovaryan stimülasyonu sırasında rekombinant FSH (Gonal-F; Merck-Serono, Lyon, France veya Puregon; MSD) ve GnRH antagonisti olarak da Cetrotide kullanılmıştır. Foliküler gelişimini takiben rekombinant hCG (Ovitrelle, choriogonadotropin-alfa; Merck Serono) uygulamasından 34-36 saat sonra transvaginal USG eşliğinde OPU işlemi yapılmıştır.

Yumurta toplama günü elde edilen oositler laboratuvarda uygun kültür solüsyonuna alınmıştır. Embriyonel gelişim için kültür medyum olarak Life Global (Life Global, Seattle, ABD) kültür solüsyonu kullanılmıştır. Yumurta toplama günü erkek partnerden 2-7 günlük cinsel perhiz süresi sonrasında masturbasyon yöntemi ile ejakulat alınmıştır. Semen örneği Makler Chamber sayım kamerası kullanılarak değerlendirilmiştir. Değerlendirme WHO 2010 laboratuvar el kitabına göre yapılmıştır. Semen örneği dansite gradient yöntem ile ICSI işleminde kullanılmak üzere

hazırlanmıştır. Denudasyonu yapılan oositlerin M2, M1 ve GV olup olmadığı kontrol edildikten sonra M2 oositlere ICSI yöntemi uygulanmıştır. Mikroenjeksiyon işleminden 16-18 saat sonra pronükleus kontrolleri yapılmıştır. 2 pn görülen yani sağlıklı fertilize olan embriyoların takibine devam edilmiştir.

Embriyolar inkübatör ortamında beşinci güne kadar kültüre edilmiştir. Embriyonal gelişim sırasında klivaj değerlendirilmesi yapılmıştır. Klivaj evresi; eşit olmayan bölünme, fragmantasyon ve blastomer sayısı bakımından skorlanmış ve günlük olarak takip edilmiştir. 5.gün embriyoları skorlandıktan sonra ÜYTE yönetmeliğine göre kadın yaşı ve deneme sayısına uygun olacak şekilde transfer edilecek embriyo sayısı belirlenmiştir. Artan kaliteli embriyolara embriyo dondurma işlemi yapılmıştır. ET işleminden 10-12 gün sonra beta-hCG kanda bakılarak gebelik kontrolü yapılmıştır. Gebelik pozitif olan hastalara kese ve fetal kalp atımı bakılarak klinik gebelikler kayıt edilmiştir. Doğum yapan hastaların verilerinden canlı doğum oranları kaydedilmiştir.

.

BÖLÜM 4. BULGULAR VE YORUMLAR

Bu çalışmada 2010-2018 yılları arasında Acıbadem Altunizade Hastanesi Tüp Bebek ve Üreme Sağlığı Merkezine başvurmuş olan 185 ICSI siklusu incelendi. Sperm konsantrasyonuna göre 185 hasta; kriptozoospermi (grup 1, n=27), şiddetli oligozoospermi (grup 2, n=58) ve normozoospermi (grup 3, n=100) olmak üzere üç gruba ayrıldı. 185 hastanın demografik özelliklerinden; kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi ve vücut kitle indeksi (BMI), antral folikül sayısı ve uygulanan total FSH doz verileri tablo 5'de verildi.

Tablo 5. Hastaların Demografik Özellikleri

	Grup 1 (n=27)	Grup 2 (n=58)	Grup 3 (n=100)	p değeri
Kadın yaşı (yıl)	27,9±4,5	29,5±3,5	29,4±3,4	0,297
Erkek yaşı (yıl)	31,2±4,2	33,3±5,1	33,6±4,7	0,055
İnfertilite süresi (yıl)	3,7±3,2	3,97±2,9	4,3±3,4	0,618
Vücut kitle indeksi (kg/m2)	22,3±6,6	23,4±3,8	23,3±4,9	0,837
Antral Folikül Sayısı (AFC)	15,7±5,5	13,8±4,1	14,1±3,6	0,14
Total FSH dozu (IU)	1460±394,4	1511,8±405,7	1715,8±835,3	0,6

Demografik özellikleri analiz edilen her üç grup arasında; kadın yaşı, erkek yaşı, infertilite süresi ve vücut kitle indeksi, antral folikül sayısı ve uygulanan total FSH dozu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$).

Erkek yaşı açısından gruplar arasındaki farkın $p<0,05$ anlamlılık düzeyine yaklaştığı görülmektedir. Bizim çalışmamızda kriptozoospermi hastalarından oluşan grup 1'de erkek yaşı ortalamasının diğer gruplardan yaklaşık 2 yıl daha genç olduğu görüldü. Bu durumun laboratuvar ve klinik sonuçlarını etkileyebileceği tartışmalıdır. Erkek

yaşının ICSI sonuçlarına etkisinin araştırıldığı çalışma sayısı azdır. İlerlemiş erkek yaşının kaç olduğu konusunda tam bir görüş birliği yoktur. Bazı araştırmacılar ilerlemiş erkek yaşı cutoff değerini 35 yaş, 40 yaş veya 50 yaş şeklinde tanımlamışlardır (Meijerink vd., 2016; Stewart ve Kim, 2011; Crosnoe ve Kim, 2013; De la Rochebrochard ve Tonneau, 2003). İlerlemiş erkek yaşının artmış sperm DNA fragmantasyonu oranlarıyla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Sharma vd., 2015). Bazı araştırmalarda ise paternal yaşın ICSI sonuçlarını olumsuz etkilemediği gösterilmiştir (Meijerink vd., 2016; Gat vd., 2017).

İnfertilite süresi ortalama ve standart sapma değerleri açısından bakıldığında grup 1'de daha kısadır. Nedeni ise sperm sayısı çok düşük olduğundan hastalara hemen tedavi önerilmesi olabilir. Normospermiklerde ise biraz daha ekspektan ve ertelenebilir bir yaklaşım izlenmektedir. Şiddetli oligozoospermikler de ise ilk tedavi seçeneği olarak ICSI değil de yardımcı üreme tekniklerinden aşılamanın kimi kez önerilebilmesi tüp bebek tedavisine başlama süresinin uzama nedeni olabilir.

Kadın yaşının klinik sonuçları etkilediği bilinen en önemli parametredir. Yapılan çalışmalar kadın yaşıyla gebelik oranlarının arasında anlamlı bir negatif korelasyon olduğunu göstermiştir (American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committee, 2014; Baird ve Collins, 2005). Bizim verilerimizde görüldüğü üzere kadın yaşı kriptozoospermi grubunda diğer gruplara oranla 2 yıl daha genç bulundu. Bu durum bu tip hastaların tedaviye erken dönemde yönlendirilmesi nedeniyle beklenen bir durumdur ve klinik başarı sonuçlarına pozitif etki sağladığı düşünülebilir.

Embriyoloji laboratuvarı sonuçları açısından toplam oosit, M2 oosit, 2pn, klivaj embriyo, 3. Gün toplam embriyo, 3. Gün grade 1, grade 2, grade 3 embriyo sayıları ve transfer sonrası embriyo dondurma oranları analiz edilmiştir. Tablo 6'da sonuçlar gösterildi.

Tablo 6. Embriyoloji laboratuvarı Sonuçları

	Grup 1 (n=27)	Grup 2 (n=58)	Grup 3 (n=100)	p değeri
Oosit sayısı (n)	14,4±4,6	13,2±4,6	13,4±4,1	0,565
M2 oosit sayısı (n)	10,5±3,5	10,8±3,3	11,2±3,4	0,664
2pn sayısı (n)	8,4±3	8,9±3,4	10,5±3,5	0,219
Klivaj embriyo sayısı (n)	8,4±3	8,7±3,4	9,7±3,2	0,081
3. gün toplam embriyo sayısı	6,6±2,6	6±2,6	6,5±2,6	0,514
3. gün grade1 embriyo sayısı	4,1±2,9	3,3±1,8	3,3±1,9	0,644
3. gün grade2 embriyo sayısı	1,9±1,3	1,7±1,4	2,3±1,5	0,061
3.gün grade3 embriyo sayısı	0,6±1	0,7±1,3	0,8±1,2	0,353
Embriyo (blastokist) dondurma oranı (%)	%52	%64	%57	0,535

Verileri analiz edilen her üç çalışma grubunda ortalama fertilize (2pn) olan M2 oosit sayısı, klivaj embriyo sayısı, 3.gün gelişen toplam embriyo sayısı ve 3.gün grade 1, grade2, grade 3 embriyo sayıları ve embriyo dondurma oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$). Vakaların 5.günde transfer edilen ortalama embriyo sayıları benzerdi. Transfer sonrası artan kaliteli embriyolar için dondurma işlemi yapılmıştır. Embriyo dondurma oranı grup 1'de %52, grup 2'de %64 ve grup 3'te %57 bulundu. Grup 2'de embriyo dondurma oranı göreceli yüksek olsa da her üç grup arasında anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Çalışmamızda fertilizasyon (2pn) sayıları üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p>0.05$). Literatürde, oligospermik hastalarla normospermik hastaların fertilizasyon oranlarını karşılaştıran çalışmalara bakıldığında, bazı çalışmalar oligo ve şiddetli oligospermi durumlarında normospermiklere göre daha düşük fertilizasyon oranları bulmuşken (Mazzilli vd., 2017; Yang vd., 2018; Hashimoto vd., 2010), bazı çalışmalarda ise iki grup arasında farka rastlanmamıştır (Zhu vd., 2016; Usta vd., 2016).

Kriptozoospermiklerde ejakulat spermine karşın testiküler sperm kullanımın ICSI sonuçlarının karşılaştırıldığı iki çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Abhyankar ve arkadaşları yaptıkları meta analizde fertilizasyon oranları açısından fark bulamamışlardır. Bu nedenle, kriptozoospermiklerde testiküler sperm kullanımını önermemişlerdir (Abhyankar vd., 2016). Tsai ve arkadaşları da fertilizasyon açısından benzer sonuçlara varmışlardır (Tsai vd., 2011). Hauser ve arkadaşları aynı hastada arka arkaya iki tedavisinde iki farklı kaynaktan elde ettikleri ICSI sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Fertilizasyon oranlarını testiküler sperm grubunda daha yüksek bulmuşlardır. ICSI için testiküler sperm kullanımının tercih edilmesini önermişlerdir (Hauser vd., 2011). Hourvitz ve arkadaşları da Hauser'i destekler şekilde testiküler sperm kullanımının olumsuz sonuç yaratmadığı ve ejakulat spermi ile kıyaslanabilir klinik sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir (Hourvitz vd., 1998). Ayrıca, Bükülmez ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 890 ICSI/ET siklusunu retrospektif olarak araştırmışlardır. Sperm kaynağı ve sperm konsantrasyonuna göre hastaları dört grupta incelemişlerdir. Gruplar arasında fertilizasyon oranlarını karşılaştırmışlar ve nonobstrüktif ve obstrüktif azospermik hastalarda testiküler sperm kullanımı en az ejakulat spermi kadar etkili olduğunun sonucuna varmışlardır. Sperm kaynağının ICSI sonuçlarını etkilemediğini göstermişlerdir (Bükülmez vd., 2001). Demir ve arkadaşları ise nonobstrüktif azospermik ve şiddetlioligozoospermik iki hasta grubu olmak üzere toplam 91 ICSI siklusunu inceledikleri çalışmalarında nonobstrüktif azospermik grupta fertilizasyon oranını şiddetli oligozoospermiklere göre daha düşük bulmuşlardır (Demir vd., 2012). Bu konuda son dönemde yayınlanmış bir çalışma olan Kang ve arkadaşlarının yaptıkları meta analizde ise kriptozoospermiklerde ejakulat spermine karşı testiküler sperminin kullanıldığında fertilizasyon oranlarında fark bulamamışlardır (Kang vd., 2018).

Literatürde sperm faktörünün embriyo gelişimi üzerine etkilerini araştıran çalışmalara bakıldığında, Usta ve arkadaşları klivaj ve 1.kalite embriyo oranını şiddetli oligozoospermikler ve normospermikler arasında benzer bulmuşlardır (Usta vd., 2016). Mazzilli ve arkadaşları ise PGT-A uyguladıkları hastalarda 5.gün biyopsi yaptıkları embriyolarda şiddetli oligozoospermikleri normospermiklerle kıyasladıklarında öploid blastokist sayılarını benzer bulmuştur (Mazzilli vd., 2017). Hashimoto ve arkadaşları ise şiddetli oligozoospermikler ve çok şiddetli oligozoospermik hasta grupları arasında klivaj embriyo ve 5.gün kaliteli embriyo sayıları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark

bulamamışlardır (Hashimoto vd., 2010). Zhu ve arkadaşları normospermikleri şiddetli ve çok şiddetli oligozoospermikler ile karşılaştırdıkları çalışmada kaliteli embriyo sayısını normospermiklerde daha yüksek bulmuşken, klivaj embriyo sayıları açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır (Zhu vd., 2016).

Çalışmamızda klivaj embriyo sayısı ve 3. gün gelişen grade 1 embriyo sayıları açısından üç grup arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Klivaj evre embriyo gelişimi üzerinde maternal etkinin daha baskın olduğu bilinmektedir (Braude vd., 1988). Bizim hasta grubumuzda hasta yaşı genç olduğundan ve gruplar arasında bu açıdan anlamlı fark gözlenmediğinden, klivaj evre embriyo kaliteleri arasında fark olmaması beklenen bir durumdur.

Yapılan çalışmalar sperm faktörünün etkisini geç embriyonik gelişim döneminde göstermeye başladığını bildirmiştir (Braude vd., 1988; Neyer vd., 2015). Bu nedenle biz çalışmamızda embriyo transferi beşinci günde yapılan hastaları dahil ettik. Çalışmamızda bu hastalarda dondurulan blastokist oranları arasında anlamlı fark gözlenmedi. Bu sonuç, çok şiddetli ve şiddetli OAT gruplarında da benzer derecede iyi kalite blastokist gelişimi izlendiğini göstermektedir. Burdan yola çıkıldığında çok şiddetli OAT ve hatta kriptozoospermi hastalarından elde edilebilen sınırlı sayıdaki sperm hücrelerini tedavide primer olarak kullanmayı düşünmek hasta açısından daha avantajlı olabilir sonucuna varabiliriz.

Tablo 7. Klinik Sonuçlar

	Grup 1 (n=27)	Grup 2 (n=58)	Grup 3 (n=100)	p değeri
Gebelik oranı (n /%)	18/%67	47/%81	74/%74	0,3
Klinik gebelik oranı (n/%)	15/%56	39/%67	62/%62	0.65
*Canlı doğum oranı (n/%)	11/%41	23/%40	39/%39	0,905
Ortalama transfer edilen embriyo sayısı (n)	2,03±0,5	1,96±0,4	1,95±0,3	0,697

*Bu analiz bu tarihe kadar doğum yapmış olan 73 sayıdaki hasta üzerinden yapılmıştır. Canlı doğumu bildirilmeyen hastalar olduğundan preliminer subgrup analizi gibi değerlendirilmelidir.

Şiddetli erkek infertilitesinin ICSI sonuçlarına etkisini göstermek amacıyla klinik sonuçlar analiz edildi. Klinik sonuçlar için gebelik, klinik gebelik ve canlı doğum oranları değerlendirildi. Canlı doğum oranları canlı doğumu bildirilen hastalar üzerinden yapıldı. Preliminer subgrup analizi gibi düşünülmelidir. Gebelik oranı grup 1 için %67, grup 2 %81 ve grup 3 için %74 bulundu. Klinik gebelik oranı ise grup 1 için %56, grup 2 %67 ve grup 3 için %62 bulundu. Gruplar arasında anlamlı bir fark olmamasına karşın en yüksek gebelik oranı %81 ile grup 2'de görüldü. Ancak şiddetli oligozoospermi grubunda gebelik oranı %81 iken ve klinik gebelik oranı ise %67 görüldü. Aralarındaki fark daha yüksek olduğundan grup 2'de abort oranının daha fazla olduğu söylenebilir. Canlı doğumu bildirilen ve verileri girilmiş olan kayıtlardan yapılan analizle canlı doğum oranları grup 1 için %41, grup 2 %40 ve grup 3 için %39 bulundu.

Literatürde konuyla ilgili klinik sonuçları değerlendiren çalışmalara bakıldığında, Hashimoto ve arkadaşlarının klinik gebelik, implantasyon ve gebelik kayıpları oranlarında şiddetli ve çok şiddetli oligozoospermik hastalar arasında anlamlı bir fark bulamadığı görülmüştür (Hashimoto vd., 2010). Mazzilli ve arkadaşları şiddetli oligozoospermikleri normospermiklerle karşılaştırdıklarında canlı doğum ve gebeli kayıpları oranlarını benzer bulmuşlardır (Mazzilli vd., 2017). Usta ve arkadaşları da benzer şekilde şiddetli oligozoospermikleri normospermiklerle kıyasladığında implantasyon, klinik gebelik, düşük ve canlı doğum oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamamışlardır (Usta vd., 2016). Yang ve arkadaşlarının şiddetli oligozoospermikleri hafif oligozoospermiklerle karşılaştırdıkları çalışmada ise biyokimyasal gebelik, klinik gebelik, ektopik gebelik, geç gebelik kaybı ve canlı doğum oranlarında anlamlı fark görülmemiştir (Yang vd., 2018).

Kriptozoospermiklerde ejakulat spermi yerine testiküler spermi kullanımının ICSI klinik sonuçlarının karşılaştırıldığı Tsai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada klinik gebelik, kimyasal gebelik, canlı doğum oranları ve abort oranları benzer bulunmuştur (Tsai vd., 2011). Abhyankar ve arkadaşlarının yaptığı meta analizde de benzer şekilde gebelik oranları açısından anlamlı fark gözlenmemiştir (Abhyankar vd., 2016). Bu çalışmanın aksine Kang ve arkadaşlarının meta analizinde implantasyon ve gebelik oranlarının testiküler sperm kullanımında anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir.

Kriptozoospermiklerde daha iyi sonuçlar elde edildiğinden testiküler sperm kullanımını önermişlerdir (Kang vd., 2018).

Bizim sonuçlarımız üç grup arasında; gebelik oranları, klinik gebelik oranları ve canlı doğum oranları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p>0.05$). Bu durum şiddetli oligozoospermi ve kriptozoospermi gruplarındaki hastaların da yaşlarının genç olmasına bağlı olarak sayı az olsa da DNA hasarının da az olabileceğini ve bu nedenle klinik sonuçların kötü olmadığını düşündürmektedir. İstatistiksel analizlerde, canlı doğum oranları preliminer bir subgrup analizi şeklinde yapıldığından ve halen gebelikleri devam eden hastalar olduğundan dolayı bu oranlar değişebilir. Bu nedenle çalışmamızın sınırlılığı olarak düşünülebilir.

BÖLÜM 5.SONUÇ

5.1.Özet

Son zamanlarda konvansiyonel IVF ile tedavi edilemeyen şiddetli erkek faktörü olgularında ICSI tekniğinin geliştirilmesi yardımcı üreme tekniklerine önemli katkı sağlamıştır. ICSI uygulaması sperm sayısının önemini azaltsa da laboratuvar ve kinik sonuçları açısından araştırılmaya muhtaçtır. Retrospektif olarak planlayıp yürüttüğümüz araştırmamızda toplam 185 ICSI siklusunu inceledik. Hastaları sperm sayısına göre; kriptozoospermi (<1 milyon/ml, n=27), şiddetli oligozoospermi (<5 milyon/ml, n=58) ve normospermi (≥15 milyon/ml, n=100) olmak üzere 3 gruba ayırdık. Her üç grupta laboratuar sonuçlarından; fertilizasyon sayısı, 3. gün grade1 embriyo sayısı 5.gün et sonrası embriyo dondurma oranları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Gebelik oranları ve klinik gebelik oranları karşılaştırıldığında 3 grup arasında anlamlı bir fark yoktu. Doğumu bildirilen hasta verileri üzerinden yapılan analiz sonucunda her üç grupta canlı doğum oranları için anlamlı bir fark bulunamadı. Yaptığımız çalışma ile kriptozoospermi ve şiddetli oligozoospermi vakalarında elde edilen laboratuar ve klinik sonuçları arasında anlamlı fark olmadığı sonucuna varıldı.

5.2.Yargı

Literatürde farklı sperm kaynaklarının ve parametrelerinin ICSI sonuçlarına etkisinin araştırıldığı birçok yayın bulunmaktadır. Son yıllarda şiddetli erkek faktöründe testiküler sperm veya ejakulat spermi kullanımının faydalı olup olmaması üzerinde durulmaktadır. Ayrıca kriptozoospermik/çok şiddetli oligozoospemrik ve şiddetli oligozoospermikler için sperm konsantrasyonu cutoff değeri araştırmalarda farklı ele alınmıştır. Bu nedenlerden dolayı özgün bir çalışma olması için azospermik hastaları dahil etmedik. Özelikle şiddetli erkek faktörü durumunda kriptozoosperminin ve şiddetlioligozoosperminin ICSI sonuçlarına etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda kriptozoosperminin ve şiddetli oligozoosperminin ICSI sonuçları üzerinde anlamlı bir etki yaratmadığını gördük. Embriyoloji laboratuvarında bu olguların

yönetemi oldukça zordur. TESE işlemi invaziv bir işlem olduğundan kriptozoospermiklerde ilk olarak ejakulat spermi tercih edilmelidir. Embriyonik genom akitivitesi üçüncü günden sonra gerçekleştiği için şiddetli erkek faktörü olgularında beşinci gün embriyo transferi tercih edilmelidir.

5.3.Öneriler

Kriptozoospermi vakalarında normospermiklere göre benzer sonuçlar elde ettiğimiz sonucundan yola çıkarak, bu hastalarda TESE yoluna gitmek yerine ICSI tedavisinde ejakulattan elde ettiğimiz spermleri kullanmanın hasta açısından daha iyi bir yaklaşım olduğu söylenebilir. Bu hastalarda Opu günü ICSI işlemi öncesi daha uzun abstinans süreleri ve ardışık ejakulat alınması önerilebilir. Kriptozoospermi hastalarında tanı güç olduğundan ve kimi durumda azospermik olarak değerlendirildiklerinden dolayı literatürde konuyla ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmanın gücünü arttırmak ve daha anlamlı sonuçlar elde etmek için kriptozoospermik ve şiddetli oligozoospermik hasta sayılarının yüksek olduğu prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

EK'LER

EK-1: Etik Kurul Kararı

T.C.
MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi: 06/09/2018
Toplantı Karar Sayısı: 2018/05
Toplantı Saati: 14:00

Karar No: 2018/05-12

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans öğrencilerinden Seçkin YALÇINKAYA tarafından gönderilen "ICSI Uygulanan Üremeye Yardımcı Tedavi (ÜYFE) Sikluslarında Eşi Kriptozoospermik/Şiddetli Oligozoospermik Hastaların Normospermik Olanlarla Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması" tez önerisi ve ölçekleri 06/09/2018 tarihinde incelenerek T.C. Maltepe Üniversitesi Etik Kurulu Yönergesinin 6. maddesinde yazılı; **"bilimsel disipline bağlılık, yaşama saygı, zarar vermeme, olası zarar ve riskler konusunda tüm ilgilileri bilgilendirme, insan ve topluma sorumluluk"** gibi ilkelere uygun olduğuna; yayına temel oluşturan araştırmanın tasarım, planlama ve yürütülme aşamalarında katkıda bulunanlara yer verilmesi, eksiksiz ve doğru kaynak gösterilmesi, gereken biçim ve doğrulukta atıflarda bulunulması kaydıyla yapılmasının etik olarak uygun olduğuna; toplantıya katılan üyelerin oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Belma AKŞİT
Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Necla ÖZTÜRK
Üye

Prof. Dr. Nurgün OKTİK
Üye

Prof. Dr. Hacer KARANİSOĞLU
Üye

Prof. Dr. Nermin ÇELEN
Üye

Prof. Dr. Durmuş GÜNAY
Üye

Prof. Dr. Ahmet Zafer ÖZTEK
Üye

KAYNAKÇA

Abhyankar, N., Kathrins, M., Niederberger, C. (2016). Use of testikular versus ejakulated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with cryptozoospermia: a meta-analysis. *Fertil Steril* 105:1469-75.

Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M. (2015). A unique view on male infertility aroun the globe. *Reprod Biol Endocrin* 13: 37-46.

Ahinko-Hakamaa, K., Huhtala, H., Tinkanen, H. (2007). The validity of air and saline hysterosalpingocontrast sonography in tubal patency investigation before insemination treatment. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 132 (1): 83-7.

Allen, N.C., Herbet, C.M., Maxson, W.S., Rogers, B.J., Diamond, M.P., Wentz, A.C. (1985). Intrauterine insemination: a critical rewiew. *Fertil Steril* 44(5): 569-80.

Amerian College of obstetricians an Gynecologists Committee on Gynecologic Practice and Practice Committe. (2014). Female age-related fertility decline.. *Fertil Steril* 101(3):633-4.

American Society For Reproductive Medicine. (2001). Intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

Aydos, K. (2007). Erkek infertilitesi. İç: Anafarta, K., Bedük, Y., Arıkan, N. editörler. Temel Üroloji 3. baskı; Güneş Tıp Kitabevi 967-1012.

Aytoz, A., Camus, M., Tournaye, H., Bonduellle, M., van Steirtegham, A., Devroey, P. (1998). Outcome of pregnancies after intracytoplasmic sperm injection and effect of sperm origion and quality on this outcome. *Fertil Steril* 70: 500-5.

Baird, D.T., Collins, J., Egozcue, J., Evers, L.H., Gianaroli, L., Leridon, H., Sunde, A., … (2005). Fertility and ageing. ESHRE Capri Workshop Group. *Hum Reprod* Update 11(3):261-76.

Barbieri, R.L., (2004). Female infertility. In Strauss, F.J, Barbieri R.L. (eds), Reproductive Endocrinology. Pensylvania: Elsevier Inc. 5:633-68.

Bozkırlı, İ. (1999). Erkek infertilitesi. Bozkırlı, İ. (eds), Yeni Üroloji. Türk Hava Kurumu Basımevi, Ankara.

Braude, P., Bolton, V., Moore, S. (1988). Human gene expression first occurs between the four-and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature*. 332(6163):459-61.

Burns, R.K. (1961). Role of hormones in the differentation of sex. In: Sex and internal secretions. 2 ed, Vol.1, Young WC (ed). Baltimore, Williams and Wilkins, pp:76.

Bükülmez, O., Yücel, A., Yarali, H., Bildirici, İ., Gurgan, T. (2001). The orijin of spermatozoa does not affect intracytoplasmic sperm injection outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 94(2): 250-5.

Clermont, Y. (1972). Genetics of spermatogenesis in mammals. Seminiferous epithelium cycle and spermatogoium renewal. *Physiol Rev*, 52: 198.

Cooper, T.G., Yeung, C.H., Nahsan, D., Jockenhövel, F., Nieschlag, E. (1990). Improvement in the assesment f human epididymal function by the use of inhibitors in the assay of α-glukosidase in seminal plasma. J Androl 13:297-305.

Cooper, T.G., Noonan, E.A., von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H.W. (2010). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 16: 231-45.

Craft, I., Tsirigotis, M. (1995). Simplified recovery, preparation and a cryopreservarion of testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 10: 1623.

Crosnoe, L.E., Kim, E.D. (2013). Impact of age on male infertility. *Curr Opin Obstet Gynecol* 25: 181-5.

Çulha, M. (2007). Erkek infertilitesinde tanı. TUYK Ders Notları Kitabı. Ankara: Ünal Ofset 292-6.

de Jonge, C., La Fromboise, M., Bosmans, E., Ombelet, W., Cox, A., Nijs, M. (2004). Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril* 82: 57-65.

de Kretser, DM. (1977). Male infertility. Lancet 349:787-90.

de la Rochebrochard, E., Thonneau, P. (2003). Paternal age ≥40 years: an important risk factor for infertility. *Am J Obstet Gynecol* 189: 901-5.

Delilbaşı, L. (2008). İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. Veri Medikal Yayıncılık, Ankara.

Demir, B., Arikan, II., Bozdağ, G., Esizler, I., Karakoc Sokmensuer, L., Gunalp, S. (2012). ICSI outcome patients with severe oligospermia vs. non-obstructive azoospermia. *Clin Exp Obstet Gynecol* 39(2): 141-3.

Eliasson, R., Treschl, L. (1971). Supravital staining of human spermatozoa. *Fertil Steril* 22:134-7

Enginsu, M.E., Dumoulin, J.C.M., Pieters, M.H.E.C. (1992). Comparison between the hypoosmotic swelling test and the morphology using strict criteria predicting in vitro fertilization (IVF). *J Assist Reprod Genet* 9:259-64

Evenson, D.P., Kasperson, K., Wixon, R.L. (2007). Analysis of sperm DNA fragmentation using flow cytometry and other techniques. Soc *Reprod Fertil* Suppl 65:93-113.

Fawcett, D.W. (1975). The mammalian spermatozoa. *Dev Biol*, 44: 394.

Garenne, M.L., Frish, R.E. (1994). *Natural Fertility*. Infertility Reproductive Med. Clin. North America 5.159-282.

Gat, I., Tang, K., Quach, K., Kuznyetsov, V., Antes, R., Filice, M., Zohni, K., … (2017). Sperm DNA fragmentation index does not correlate with blastocyst anueuploidy or morphological grading. *PLos One* 12: e0179002.

Gatimel, N., Moreau, J., Isus, F., Moinard, N., Parinaud, J., Leandri, R.D. (2018). Anti-sperm antibodies detection by a modified MAR test: Toward a better definition of its indications. *Reprod Biomed Online* 37(6):717-723.

Gomel, V., Urman, B., Yarali, H. (1993). Investigation of the infertile couple. In: Vaksel S, Beksac S, editors. Reproductive Endocrinology and Infertility Medical Network, Ankara, p:143-55.

Gökçe, A. (2011). Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre standat semen analizi. Turk Urol Sem, 2: 1-7.

Griffith, C.S., Grimes, D.A. (1990). The validity of the postcoital test. *Am J Obstet Gynecol*. 162 (3): 615-20.

Grudzinskas, J.G., Yovich, J.L. (1988). Gametes- The Spermatozoon. 1st ed. Cambridge University Press.

Hai, Y. (2014). The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermataogonial stem clls and spermtogenesis. *Semin Cell Dev Biol*.

Hashimoto, H., Ishikawa, T., Goto, S., Kokeguchi, S., Fjisawa, M., Shiotani, M. (2010). The effects of severity of oligozoospermia pn Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) cycle outcome. *Syst Biol Reprod Med* 56(1): 91-5.

Hauser, R., Bidi, G., Yogev, L., Carmon, A., Azem, F., Botchan , A., Yavetz, H., Klieman, S., Lehavi, O., Amit, A., … (2011). Virtual azospermia and cryptozoospermia-fresh/frozen testicular or ejaculate sperm for better IVF outcome? *J Androl* 32(5): 484-90.

Hirsh, A. (2003). Male subfertility. *BMJ* 327 (7416) : 669-72.

Hourvitz, A., Shulman, A., Madjar, I., Levron, J., Levran, D., Mashiach, S., Dor, J. (1998). In vitro fertilization treatment for severe male factor: a comparative study of intracytoplasmic sperm injection with testicular sperm extraction and with spermatozoa from ejaculate. *J Assist Reprod Genet* 15(6):386-9.

Huang, C., Li, B., Xu, K., Liu, D., Hu, J., Yang, Y., Nie, H. (2017). Decline semen guality among 30,636 young Chinese men from 2001-2015. *Fertil Steril* 107: 83-8.

Kang, Yi-No., Hsiao, Ya-Wen., Chen, Chien-Yu., Chih, Wu Chien. (2018). Testicular sperm is superior to ejaculated sperm for ICSI in cryptozoospermia: An update systematic review and meta-analysis. *Scientific reports/Nature* 8:7874.

Kent-First, M., Muallem, A., Shultz, J. (1999). Defining regions of the Y chromosome responsible for male infertility and identification of a fourt AZF region (AZFd) by Y chromosome microdeletion detection. *Molec Reprod and Develop* 53: 27-41.

Knobil, E., Neill, J. (1998). The Physiology of Reproduction. 1st ed. Newyork, Raven Press.

Kretzer, D.M. de., Loveland, K.L., Meinhardt, A. (1998). Spermatogenesis. Current Theory and Practice of ICSI. *Hum Reprod*, 13 (Suppl) : 1.

Kruger, T.F., Menkeveld, R., Stander, F.S., Lombard, C.J., Van der Merwe, J.P., van Zyl, J.A., Smith, K. (1986). Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 46: 1118-1123.

Lim, C.P., Hasafa, Z., Bhattacharya, S., Maheshwari, A. (2011). Should a hysterosanpingogram be a first-line investigation to diagnose female tubal subfertility in the modern subfertility workup? *Hum Reprod*. 26 (5): 967-71.

Loutradi, K.E., Tarlatzis, B.C., Goulis, D.G., Zepiridis, L., Pagou, T., Chatziioannou, E., Grimbizis, G.F., … (2006). The effects of sperm quality on embriyo development after intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet* 23: 69-74.

Mazzilli, R., Cimadomo, D., Vaiarelli, A., Capalbo, A., Dovere, L., Alviggi, E., Dusi, L., … (2017). Effect of the male factor on the clinical outcome of intracytoplasmic sperm ijection combined with preimplantation aneuploidy testing: observational longitudinal cohort sudy of 1219 consecutive cycles. *Fertil Steril* Vol. 108 No.6 December .

Means, A.R., Fakunding, J.L., Huckins, C. (1976). Follicle stimulating hormone, Sertoli cell and spermatogenesis. *Res Prog Horm Res*, 32: 447.

Meijerink, A.M., Ramos, L., Fleischer, K., Veltman, J.A., Hendriks, J.C., Braat, D.D. (2016). Influence of paternal age on ongoing pregnancy rate at eight weeks' gestation in assisted reproduction. *Reprod Biomed Online* 32: 6-103.

Neyer, A., Zintz, M., Stecher, A., Bach, M., Wirleitner, B., Zech, N., Vanderzwalmen, P. (2015).The impact of paternal factors on cleavage and blastocyst development analyzed by time-lapse imaging-a retrospective observational study. *J Assist Reprod Genet* 32:1607-1614.

Oei, S.G. (1998). The postcoital test: a contoversial investigation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 77 (2): 123-4.

Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., Van Steirtegham, A.C. (1992). Pregnancies after intracytoplasmicinjection of single spermatozoon into a oocyte. Lancet. 340:17-8.

Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. (2008). Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 89(6):1603

Practice Committee of the American Society for Reproductive M. (2015). Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril* 103(3):e18-25.

Purvis, K., Chiristiansen, E. (1993). Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnoszis and treatment in relationship to male infertility. *J Androl* 16:1-13.

Rolland, M., Moal, J.L., Wagner, V.O., Royere, D., de Mouzon, J.(2012). Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26,609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Hum Reprod* 28: 462-70.

Rousseau, S., Lord, J., Lepage, Y., van Lampenhout, J. (1983). The expectancy of pregnancy for normal infertile couples. *Fertil Steril* 40: 768-772.

Rutherford, A.J., Strauss, J.F., Steirtegham, A.C. (1999). Implantation and Endometrial Function: Fauser BJ (ed) Molecular Biology in Reproductive Medicine Newyork, The Parthenon Publishing Group. 335.

Sadler, T.W. (1985). Gametogenesis. Langman's Medikal Embryology. 5th ed. Baltimore, Williams and Wilkins.

Salle, B., Gaucherand, P., de Saint Hilaire, P., Rudigoz, R.C. (1999). Transvaginal sonohysterographic evaluation of intrauterine adhesions. *J Clin Ultrasound* 27 (3):131-4.

Schlegel, P.N., Girardi, S.K. (1997). In vitro fertilization for male infertility. *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism* 82(3): 709-716.

Sharma, R., Agarwal, A., Rohra, V.K., Assidi, M., Abu-Elmagd, M., Turki, R.F. (2015). Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol* 13: 35.

Shirivastav, P., Nadkami, P., Wensvoort, S., Craft, I. (1994). Percutaneus epididymal sperm aspiration for obstructive azospermia. *Hum Reprod* 9: 2058.

Sigman, M. (1994). Assisted Reproductive tecnics and Male infertility. *The Urological Clinics of North America* 21(3): 505-15.

Soares, S.R., Barbosa, dos Reis, M.M., Camargos, A.F. (2000). Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril* 73 (2):4006-11.

Stewart, A.F., Kim, E.D. (2013). Fertility concerns for the aging male. *Urology* 78: 496-9

Templeton, A.A., Penney, G.C. (1982). The incidance, characteristics and prognosis of patients whose infertility is unexplained. *Fertil Steril* 37: 175-182.

The Practice Committee of the America Society for Reporductive Medicine. (2000).Optimal evaluation of the infetil female. Cambridge: Cambridge University Press

Tıraş, M.B., Aybar, F. (2006). İnvitro Fertilizasyon-intrasitoplazmik sperm injeksiyonu endikasyonları. Türkiye Klinikleri, *J Surg Med* Sci 2(5):37-41.

Tremellen, K. (2008). Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 14 (3) :243-58.

Tsai, C.C., Huang, F.J., Wang, L.J., Lin, Y.J., Kung, F.T., Hsieh, C.H., Lan, K.C. (2011). Clinical outcomes and development of children born after intracytoplasmic sperm injection (ICSI) using extracted testicular sperm or ejaculated extreme severe oligo-astheno-teratozoospermia sperm: a comparative study. *Fertil Steril* 96(3):567-71.

Usta, A., Erdem, E., Karacan, M., Cebi, Z., Uluğ, M., Arvas, A., Usta, C., Camlibel, T. (2016). The Effect of the Sperm Source on the Outcome of Intracytoplasmic Sperm

Injection-Embryo Cycles in Normal Responder Women. *Acta Medica Anatolia* Volume 4 Issue 2 .

Van Steirteghem, A. (2002). Intracytoplasmic sperm injection: micromanipulation in assisted fertilization. In Vayana, E., Rowe, P.S., Griffin, P.D. (es), Current practies and controversies in assisted reproduction: report of a meeting. Geneva. WHO, pp 134-141.

Van Steirteghem, A., Lice, J., Nagy, Z. (1993). Use of assisted fertilization. *Hum Reprod* 8: 1784-8.

Vayena, E., Rowe, P., Griffin, P. (2002). Current Practices and Controversies inAssisted Reprudiction. Report of a meeting on Medical, Ethical andSocial Aspets of Assisted Reprodiction held at WHO HeadquartersIn; Geneva, Switzerland.

Vermesh, M., Kletzky, O.A., Dajavan, V., Israel, R. (1987). Monitoring techniques to predict and detect ovulation. *Fertil Steril* 47: 259-64

Wang, L., Zhang, L., Song, X., Zhang, H.B., Xu, C., Chen, Z.J. (2017). Decline of semen quality among Chinese sperm bank donors within 7 years (2008-2014). *Asian J Androl* 19: 521-5.

Wilcox, A.J., Weinberg, C.R., Baird, D.D. (1995). Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conseption, survival of the pregnancy and sex of the baby. *N Engl J Med* 333(23):1517-21.

Williams, P.L. (1995). Reproductive Organs ıf the Male. Gray's Anatomy 38th ed.

Wilson, J.D., George, F.W., Griffin, J.E. (1981). The hormonal control of sexual development. *Science*, 211:1278.

Wilson, J.G. (1978). Sexual differentation. *Ann. Rev Physiol*, 40: 229.

World Health Organization (2000). WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertil Male. Cambridge: Cambridge University Press.

World Health Organization (2010). WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5 th ed.Geneva: WHO.

Yang, C., Zhou, Z.H., Zheng, D.N., Xu, X.F., Haung, J., Lian, Y., Qiao, J. (2018). Sperm origins and concentration do not impact the clinical outcomes in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Asian J of Androl* 20: 1-5.

Zhu, Y.T., Luo, C., Li, Y., Li, H., Quan, S., Deng, Y.J., Yang, Y., … (2016). Differences and similarities between extremely severe oligozoospermia and cryptozoospermia in intracytoplasmic sperm injection. *Asian J of Androl* 18: 904-07.

Zinaman, M.J., Clegg, E.D., Brown, C.C., O'Connor, J., Slevan, S.G. (1996). Estimas of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril* 65(3):503-9