TESE İLE SPERM ELDE EDİLEREK ICSI UYGULANMIŞ AZOSPERMİK HASTALARIN KRİPTOZOOSPERMİK OLANLARLA FERTİLİZASYON VE GEBELİK ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Leyla MAMMADLİ
201503201

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet CINCIK

İstanbul
T.C. Maltepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Mayıs, 2023

TESE İLE SPERM ELDE EDİLEREK ICSI UYGULANMIŞ AZOSPERMİK HASTALARIN KRİPTOZOOSPERMİK OLANLARLA FERTİLİZASYON VE GEBELİK ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Leyla MAMMADLİ
201503201
ORCID: 0000-0003-3029-1921

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet CINCIK

İstanbul
T.C. Maltepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Mayıs, 2023



JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge" ile bildirilen 6698 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge" ile bildirilen 6698 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim ve tez çalışmam boyunca, bilgi, birikim ve tecrübeleriyle bize yol gösteren, desteğini esirgemeyen, değerli danışman hocam Sayın Prof.Dr. Mehmet CINCIK'a, tezimin yürütülmesi ve geliştirme aşamalarında yardım ve hoşgörüsünü hiç esirgemeyen sevgili hocam Öğr. Gör. Hale BAYRAM'a, öğrenci işlerim üzerinde büyük katkı sağlayan Mehmet Ali BALCI'ya, tüp bebek Laboratuvarında her türlü klinik uygulamayı bana gösteren, öğreten ve deneyim imkanı veren değerli insan Emb. Mustafa EKİNCİ'ye ve onun değerli asistanı Dilara FARZALİYEVA'ya, Türkiyeye gelişimden başlayarak, eğitim hayatımın her anında yanımda olan ve maddi ve manevi her koşulda beni destekleyen canım babam Ali MAMMADOV'a, canım annem Güllüzar MAMMADOVA'ya ve sevgili kardeşim Çingiz MAMMADLİ'ye sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Leyla MAMMADLİ

Mayıs, 2023

ÖZET

TESE İLE SPERM ELDE EDİLEREK ICSI UYGULANMIŞ AZOSPERMİK HASTALARIN KRİPTOZOOSPERMİK OLANLARLA FERTİLİZASYON VE GEBELİK ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Leyla Mammadli
Yüksek Lisans Tezi
Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, 2023

İnfertilite, çiftlerin en az bir yıl süre içerisinde hiçbir korunma yöntemi olmaksızın cinsel ilişkiye rağmen kadında gebeliğin oluşmaması durumudur. Gebelik elde edemeyen çiftlerin yarıya yakın kısmında erkek faktörü bulunmaktadır. Son derece düşük sperm sayısı ve sperm motilitesi olan kriptozoospermik ya da azospermik erkeklerde üremeye yardımcı tekniklerin kullanılmasını ICSI gerektirir. Bu çalışmada azospermi sebebiyle Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE) yapılan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanmış hastalar ile kriptozoospermik hastalar için fertilizasyon ve gebelik oranlarının retrospektif karşılaştırılması amaçlandı.

Çalışma kriterlerine uyan 528 (1.grup azospermik n=256 ve 2.grup kriptozoospermik n=272) hasta çalışmanın örneklemini oluşturdu. Gruplarda %48,5'lik oranla (n=256) azospermi olgusu ve %51,5'lik oranla (n=272) kriptozoospermi olgusu bulunmaktadır. Olguların % 100'ünde (n=528) döllenme olduğu görüldü. Araştırmaya katılan 528 olgudan 92 tanesinde çeşitli sebeplerden dolayı embriyo transferi yapılamadığı, 436 olguda embriyo transferi yapıldığı görüldü. ET yapılan 436 olgudan %44,3'ünde (n=193) gebelik görülmezken, %55,7'sinde (n=243) gebelik görüldü. Kriptozoospermi grubundaki olgularda freezing yapılma oranı, azospermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptandı (p=0,008; p<0,01). Kriptozoospermi grubundaki olgularda 2PN sayısı ≥6 olanların oranı, azopermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptandı (p=0,036; p<0,05). Azospermik grupta gebelik oranı

%51 ve kriptozoospermik grupta %49 ($p<0.059$) olup, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Sonuç olarak gebelik oranlarında farklılık saptanmazken, kriptozoospermik vakalarda ise fertilizasyonun ve embriyo transferinden sonra kalan dondurulacak embriyo sayılarının daha yüksek olduğu gözlendi. Bu değerlendirmeden hareketle kriptozoospermik vakalarda TESE uygulamanın ejekülat spermine tercih edilmesinin fertilizasyon ve dondurulacak embriyo sayılarını arttırsa da transfer ve gebelik oranını arttırmayacağı yargısına varıldı.
Anahtar Sözcükler: Azospermi, TESE, Kriptozoospermi, ICSI, Fertilizasyon, İnsan, Gebelik.

ABSTRACT

COMPARİSON OF FERTİLİZATİON AND PREGNANCY RATES BETWEEN AZOOSPERMIA PATIENTS WHOSE SPERM WERE OBTAINED BY TESE AND CRYPTOZOOSPERM IN ICSI CYCLES

Leyla Mammadli
Master Thesis
Department of Clinical Embryology
Clinical Embryology Master's Programme with Thesis
Thesis Advisor: Prof.Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe University Graduate School, 2023

Infertility is the inability of couples to achieve pregnancy despite unprotected sexual intercourse for at least one year. The male factor is present in almost half of the couples who cannot achieve pregnancy. The use of assisted reproductive techniques in men with extremely low sperm count and sperm motility, such as cryptozoospermia or azoospermia, requires ICSI. The aim of this study was to retrospectively compare fertilization and pregnancy rates for patients who underwent Testicular Sperm Extraction (TESE) due to azoospermia and those with cryptozoospermia who underwent intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

528 patients (256 with azoospermia and 272 with cryptozoospermia) who met the study criteria were included in the study. Azoospermia was present in 48.5% (n=256) of the patients in the first group, while cryptozoospermia was present in 51.5% (n=272) of the patients in the second group. Fertilization was observed in 100% of the cases (n=528). Embryo transfer could not be performed in 92 of the 528 cases due to various reasons, while embryo transfer was performed in 436 cases. Pregnancy was observed in 55.7% (n=243) of the cases with embryo transfer, while it was not observed in 44.3% (n=193). The freezing rate was significantly higher in the cryptozoospermia group than in the azoospermia group (p=0.006; p<0/01). The rate of cases with 2PN count ≥6 in the cryptozoospermia group was significantly higher than that in the azoospermia group (p=0.036; p<0/05). The pregnancy rate was 51% in the azoospermic group and 49% in

the cryptozoospermic group ($p<0.059$), and there was no significant difference between the two groups.

In conclusion, there was no difference in pregnancy rates, but it was observed that the number of embryos to be frozen after fertilization and embryo transfer was higher in cryptozoospermia group. Based on this evaluation, it was concluded that applying TESE in cryptozoospermia cases instead of ejaculate sperm would increase fertilization and the number of frozen embryos, but it would not increase the transfer and pregnancy rates.

Keywords: Azoospermia, TESE, Cryptozoospermia, ICSI, Fertilization, Human, Pregnancy

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ii

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI iii

TEŞEKKÜR iv

ÖZET v

ABSTRACT vii

İÇİNDEKİLER ix

TABLOLAR LİSTESİ xi

ŞEKİLLER LİSTESİ xii

KISALTMALAR xiii

1. GİRİŞ 1

1.1 Problem 1

1.2 Amaç 2

1.3 Önem 3

1.4 Varsayımlar 3

1.5 Sınırlıklar 3

1.6 Tanımlar 3

2. GENEL BİLGİLER 4

2.1 Spermatogenez 5

2.2 Spermiyogenez 7
2.3 Erkek İnfertilitesi ve Değerlendirilmesi 8
2.3.1 Semen analizi 9
2.3.1.1 Azospermik ve Kriptozoospermi 11
2.3.2 Testislerden sperm elde etme yöntemi (Mikro-TESE) 12
2.3.3 ICSI ve Fertilizasyon kontrolü 14
3. YÖNTEM 16
3.1 Araştırma Modeli 16
3.2 Evren ve Örneklem 16
3.3 Veriler ve Toplanması 16
3.4 Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması 17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 18
4.1 Bulgular 18
4.2 Tartışma 25
5. SONUÇ ve ÖNERİLER 28
KAYNAKLAR 29
ÖZGEÇMİŞ 37

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1 DSÖ (WHO) 2021 semen analizi alt referans değerleri 10

Tablo 2 Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımları..... 18

Tablo 3 Gruplara Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Karşılaştırılması 20

Tablo 4 Gruplara Göre Ölçüm Değerlerinin Karşılaştırılması..... 24

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1 Spermatogenez 6

Şekil 2 Spermiyogenez 6

Şekil 3 Mikro-TESE uygulaması 13

Şekil 4 Grupların dağılımları 19

Şekil 5 Gebelik durumlarının dağılımları 20

Şekil 6 Grupların gebelik oranlarının dağılımı 21

Şekil 7 Gruplarda Freezing dağılımı 22

Şekil 8 Gruplarda ET varlığının dağılımı 23

Şekil 9 Gruplarda ET günlerinin dağılımı 23

Şekil 10 Gruplarda infertilite süresinin dağılımı 25

.

KISALTMALAR

IVF : In vitro fertilizasyon

ICSI : İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu

TESE : Testiküler Sperm Extraction

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

WHO : World Health Organization

FSH : Folikül stimüle edici hormon

LH : Luteinize hormon

ET : Embriyo Transfer

OPU : Ovum Pick-Up

NOA : Non- obstrüktif Azoospermia

OA : Obstrüktif Azoospermia

1. GİRİŞ

1.1 Problem

İnfertilite, çiftlerin en az bir yıl süre içerisinde hiçbir korunma yöntemi olmaksızın cinsel ilişkiye rağmen kadında gebeliğin oluşmaması durumudur. (Zegers-Hochschild, 2009). İnfertilite çiftlerin %10-15'ini etkilemektedir (Moshr, 1991). İnfertilite tanısı almış tüm çiftlerde %30-40 erkek faktörü, %40-50 kadın faktörü, %10-15 erkek ve kadın faktörü kaynaklı sorunlar görülürken; %10-15'i ise açıklanamayan infertilite olarak tanımlanmaktadır. Buradan da anlaşılacağı üzere, gebelik elde edemeyen çiftlerin yarıya yakın kısmında erkek faktörü bulunmaktadır. (Choy, 2018). Sperm sayısı ve motilitesi dahil olmak üzere sperm kalitesi intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunun (ICSI) sonucunu etkileyebilir (Strassburger, 2000; Van Der Westerlaken, 2005). Sperm sayısı ve motilitesi normal olan sağlıklı, doğurgan bir erkek için erkek üreme kanalında olgunlaşma sürecini tamamlamış spermler genellikle yüksek döllenme kabiliyetine sahiptir ve doğal bir gebelik meydana getirebilirler (Weissman, 2008). Bununla birlikte, son derece düşük sperm sayısı ve sperm motilitesi olan kriptozoospermik ya da azospermik erkeklerde üremeye yardımcı tekniklerin kullanılmasını ICSI gerektirir. İlk kez 1993 yılında ve sonraki birkaç çalışmada testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE)-ICSI gebelik olasılığını önemli ölçüde artıran bir prosedür olarak tanımlanmıştır (Craft, 1993; Schoysman, 1993; Vernave, 2003; Kyono, 2007). Zaman içinde bir cerrahi teknik olarak TESE kabul gördü ve multibiyopsi/konvansiyonel TESE, mikro-TESE ve testiküler sperm aspirasyonu (TESA) gibi farklı testiküler sperm toplama yöntemleri geliştirildi. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) erkek faktöründe özellikle aşırı derecede düşük sperm kalitesine sahip hastalar için baba olma umudu sağlamaktadır. (Strassburger, 2000).

Ebeveyn olmak, birçok çiftin hayalidir ve infertilite bunu zorlaştıran bir nedendir. İnfertilite vakalarının yarısı erkek kaynaklı problemlerden kaynaklanır. Sperm kalitesinin ve sayısının düşük olması bu problemlerin en başında gelmektedir. Bu nedenle azospermik erkeğin doğal yolla baba olabilme şansı yoktur, kriptozoospermiklerde ise ihtimal çok düşüktür. Azospermi ve kriptozoospermi durumunda testiste bölgesel veya çok az sperm üretilir, ancak üretimin çok az olmasından veya testis yapısındaki

bozukluklardan dolayı spermler testisten dışarı çıkamaz. Bunun için yapılan testiküler sperm ekstraksiyonu ile canlı sperm bulunursa eşinin oositlerine ICSI yapılmakta, döllenirse ve embriyo elde edilirse uterusa transfer edilerek gebelik sağlanmaya çalışılmaktadır (Schlegel, 1999).

Azospermi ve kriptozoospermi, üreme çağındaki erkeklerin %10-15'inde infertilite nedeni olarak öne çıkan en önemli nedenlerdendir. Sperm sayısı çok düşük vakalarda yapılan üremeye yardımcı tedavilerin gebelik sonuçlarını etkileyip etkilemediği tam olarak bilinmemektedir. İleri yaşla birlikte erkeklerde sperm kalitesinin bozulduğu ancak buna rağmen gebelik oluşturma şansının devam ettiği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda sperm sayısı ve kalitesinin gebelik ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. Sperm morfolojisi ile fertilizasyon ve gebelik oranları arasında da anlamlı fark bulunmamıştır. Bu da üremeye yardımcı tekniklerde başarıyı arttırmak için sperm parametrelerinin değerlendirilmesinin önemli olduğunu göstermektedir. Doğru tedavi yöntemleri ve kaliteli sperm seçimi azospermik ve kriptozoospermik erkeklerde baba olabilme oranını artırabilmektedir.

1.2 Amaç

Bu çalışmada üremeye yardımcı tedavide intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanmış hastalarda, azospermi sebebiyle Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE) yapılan erkekler ile çok az sayıda olsa da olgun sperm hücresi bulunan kriptozoospermik hastalar için fertilizasyon ve gebelik oranının retrospektif karşılaştırılması amaçlanmıştır. Araştırma sürecinde cevaplandırılmaya çalışılan sorular şunlardır:

- ICSI uygulanan TESE yolu ile sperm elde edilmiş azospermik hastalarda fertilizasyon ve gebelik oranı ne kadardır?
- Kriptozoospermik hastalarda fertilizasyon ve gebelik olasılığı daha mı yüksektir?
- Hangi gruptaki erkekler için baba olabilme şansı daha yüksektir?
- Kriptozoospermik hastalarda TESE yapılması gebeliğe bir katkı sağlamakta mıdır?

1.3 Önem

Bu çalışmada, kadın faktöründen bağımsız bir şekilde azospermik ve kriptozoospermik erkeklerde fertilizasyon ve gebelik oranları karşılaştırılmaktadır. Bu çalışma azospermik ve kriptozoospermik hastalar kapsamında farkındalığı arttırmak ve tedavi algoritmasını belirleme açısından katkı sunacaktır.

1.4 Varsayımlar

Literatürde kriptozoospermik hastalarda fertilizasyon ve gebelik oranlarını arttırmak için kimi zaman TESE yapılmasının daha doğru olacağını varsayanlar vardır. Çalışmamız bu varsayıma ışık tutacaktır.

1.5 Sınırlıklar

Kriterlere uygun hastaların bulunması uzun zaman almaktadır. Özellikle kriptozoospermik olguların azlığı prospektif çalışmayı zorlaştırmaktadır. Bu nedenle araştırma 2010-2019 yıllarında gelen hastaların arşiv taramasıyla sınırlanmıştır.

1.6 Tanımlar

Azospermi: Ejekülatta sperm bulunmaması

Kriptozoospermi: İlkin kontrolde sperm bulunmamasına rağmen detaylı inceleme sonrası çok az sperm varlığı

Oligospermi: <15 milyon/ml sperm sayısı

Astenozoospermi: <%32 ileri hareket sperm oranı

Teratozoospermi: <%4 normal morfoloji sperm oranı

2. GENEL BİLGİLER

Erkek üreme sistemi testisler (testosteron ve sperm üretim yeri), genital boşaltma kanalları (duktus epididimis, duktus deferens üretra), yardımcı genital bezler (seminal veziküller, prostat bezi, bulboüretral bezler) ve penisten oluşmaktadır. Testislerin testosteron hormonu salgılanması, spermlerin üretilmesi ve erkeklere özgü sekonder cinsiyet karakterlerinin kazandırılması gibi görevleri vardır (Ross, 2017). Testisin arka yüzünden içerisine doğru giden uzantılar yaklaşık 250-300 loba ayırır. Her lobun içerisi kıvrımlı, uçlarına doğru düz şekil alan gevşek bağ dokusu ile sarılı seminifer tübülden oluşur. Seminifer tübüllerin arasında intertisiyel (Leydig) hücreleri yer alır. Seminifer tübüller sperm üretirken, Leydig hücreleri kana salgılanması için testosteron üretir ve embriyonik dönemde cinsiyet farklılaşmasını sağlar (Mescher, 2019). Seminifer tübülde destekleyici sertoli ve spermatogenik tip hücreler vardır. Sertoli hücreleri, bazal membran üzerinde duran tübüllerin duvarını oluşturan bölünmeyen somatik hücrelerdir. Dış hatları belirsiz olan sertoli hücreleri, girintili çekirdek ve oval belirgin çekirdekçik ile karakterize edilir. Sitoplazması soluk renklidir ve küçük fibriller, lipid damlacıkları, granüllü ve granülsüz endoplazmatik retikulum, çok sayıda mitokondri içermektedir (Zhang, 1999).

Farklılaşan germ hücreleri sertoli hücrelerine bağlanır ve onlar tarafından beslenir. Sertoli hücreleri, germ hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olan çeşitli temel ürünler sentezler ki böylece eşey hücrelerinin olgunlaşması için bazal bölmede elverişli bir ortam oluşturur. Germ hücrelerinin gelişimi ve farklılaşması için sertoli hücreleri bir dizi işlevleri vardır:

1) Germ hücrelerine fiziksel destek sağlarlar ve seminifer tübüllerin lümenine doğru ilerlemelerini kolaylaştırırlar.

2) Eşey hücre olgunlaşması ve farklılaşması için gerekli mikro ortamı sağlarlar.

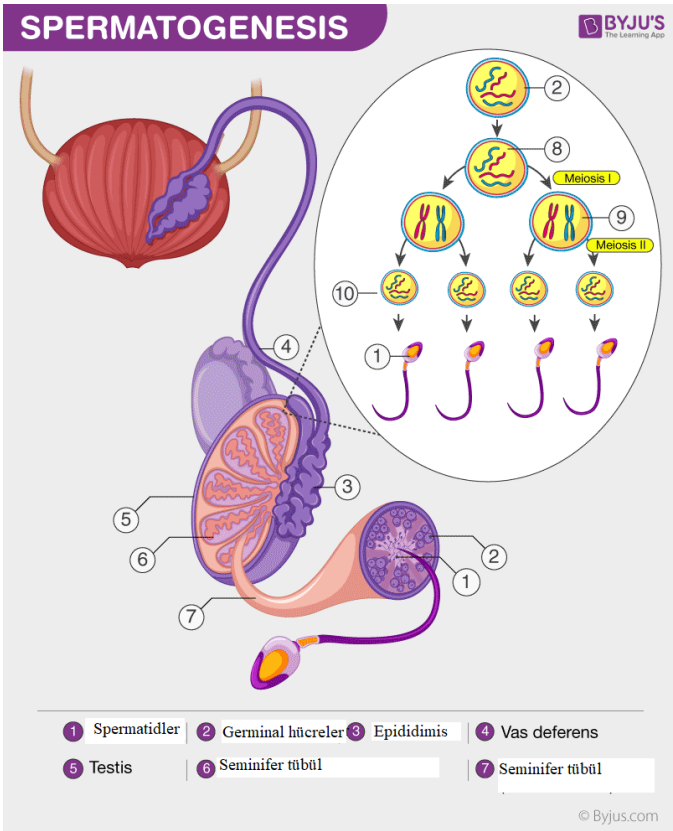
3) Sıkı bağlantılar kurmakla kan-testis bariyerini oluştururlar.

4) Germ hücresinin olgunlaşması sırasında, sertoli hücreleri tarafından fagositoz edilerek spermatozoanın gereksiz kısmını sindirir (Goldstein, 2013).

Spermatogenik seri hücreleri spermatogonium, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatit ve spermatozoa içerir. Bu hücre tipleri, epitelin bazal membranından lümene kadar sırayla farklılaşan tabaka halinde düzenlenmiştir; işlevleri olgun sperm (spermatozoa) üretmekten ibaretdir. Spermatozoa üretimi, oluşumu, gelişimi spermatogenez olarak adlandırılır. Mitoz ve mayoz bölünmeler sonucu spermatidler farklılaşarak spermatozoalara dönüşür; bu sürec spermiyogenez olarak adlandırılır (Zhang, 1999).

2.1 Spermatogenez

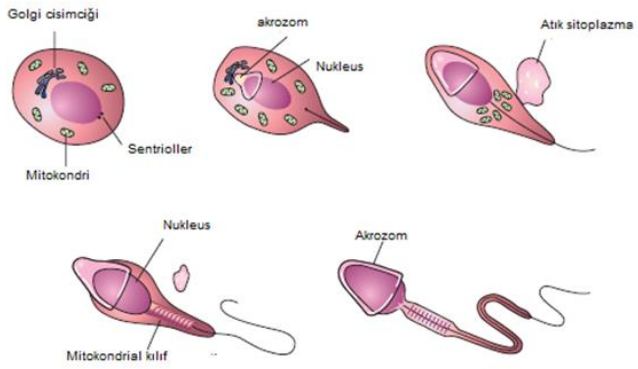
Erkek doğurganlığı, spermatogenez olarak bilinen kompleks bir süreç yoluyla testisin seminifer tübülleri tarafından spermatogonial hücrelerin çok sayıda normal sperm hücrelerine farklılaşması ile karakterize edilir. Bu süreç bireysel farklılıklar gösterse de ortalama 74 gün olarak kabul edilir ve fertil bir erkekte günde 100 milyona yakın olgun sperm üretilir (Dolores, 2015). Spermatogoniumlar kök hücrelerdir ve geliştikçe seminifer tübüllerin bazal katından lümenine doğru spermatozoa şeklinde ilerler. Spermatogenezin düzenlenmesi hem endokrin hem de parakrin hormonal mekanizmalar kontrolünde gerçekleşir. Spermatogenezin endokrin stimülasyonu hem folikül stimule edici hormonu (FSH) hem de lüteinize hormon (LH) kontrolü altında yapılır. Tubulusun germinal epitelin bazal tabakası üzerinde 3 tip spermatogonium hücresi vardır: A tipi koyu spermatogoniumlar, A tipi soluk spermatogoniumlar ve B tipi spermatogoniumlar (Zhou, 2016).



Şekil 1 Spermatogenez (https://byjus.com/biology/spermatogenesis/)

Spermatogenez 3 aşamada gerçekleşir:

1. Spermatositogenez
2. Mayoz bölünme
3. Spermiyogenez



Şekil 2 Spermiyogenez (Moore, 2016)

Şekil 1'de görüldüğü şekilde spermatositogenezde A tipi koyu spermatogoniumların mitotik bölünmesini takiben, yavru hücrelerin yaklaşık yarısı A tipi koyu hücreleri korur ve diğer yarısı A tipi soluk spermatogoniumları oluşturur. A tipi soluk spermatogonium hücreleri sırayla mitoz bölünerek daha fazla A tipi soluk spermatogoniumları ve ardından da B tip spermatogoniumları oluştururlar. Oluşan B tipi hücreler mitoz bölünme ile primer spermatositi oluşturur. Primer spermatosit 46 kromozomlu ve diploid DNA içerir. Spermatositogenez aşaması burada tamamlanır. Primer spermatositler birinci mayoz bölünmenin (reduksiyon=indirgenme) profaz evresine girerler. Birinci mayozun profaz evresinde crossing-over oluşur ve genetik çeşitlilik sağlanır. Birinci mayoz tamamlandıktan sonra sekonder spermatosit olarak adlandırılan 23 kromozomlu ve diploid DNA içeren iki adet hücre oluşur. Sekonder spermatositler ikinci mayoz II ile 2 adet haploid spermatidleri oluşturur. Böylelikle, mayoz bölünmeler sonuçu 4 adet haploid spermatid elde edilmiş olur (Şeftalioğlu, 1996). Son olarak, Şekil 2'de olduğu gibi spermatogenezin son aşaması olan, akrozomun oluşup fazla sitoplazmasının atıldığıve spermin hareket kabiliyeti kazandığı spermiyogenez başlar.

2.2 Spermiyogenez

Yuvarlak spermatidlerin metamorfozdan sonra sitoplazmasının uzayarak haraketli ve olgun spermatozoa haline dönüşme süreci spermiyogenez olarak tarif edilir (Şekil 2). Bu dönüşüm akrozomun oluşumu, çekirdek şeklinin değişmesi, kromatinin yoğunlaşması, flagellum gelişmesi ve sitoplazmanın fazlasının atılmasından oluşur (Clermont, 1972). Spermiyogenez golgi, kep/şapka, akrozomal ve olgunlaşma fazları olarak 4 fazdan oluşur (Grudzinkas, 1988).

1. Golgi Fazı: Bu fazda, çok sayıdaki proakrozomal granüller birleşerek tek büyük bir granül olan akrozomal vezikülü oluştururlar. Akrozomal vezikül çekirdek zarına yapışık olarak yerleşir. Bu sırada sentriyoller göç ederek çekirdek bölgesinden uzaklaşır ve bir sentriyol flagellumun aksonemini (bir çift santral tübülüs, 9 çift perifer tübülüsten) oluşturur (Lehti, 2016).

2. Kep/Şapka Fazı: Bu fazda, Golgi kompleksinden köken alan akrozom vezikülü büyüyür ve çekirdeğin yüzeyinin yarısı sararak akrozomal kep oluşturur. Son büyüklüğe ulaştığı zaman bu yapı akrozom olarak bilinir.

3. Akrozomal Faz: Akrozom, spermin baş kısmında yerleşmiştir ve döllenme için gerekli olan hyaluronidaz, nöraminidaz, akrozin gibi enzimlerin sentezini ve depolanmasını gerçekleştirir. Bu enzimler korona radiyata hücrelerini birbirinden ayırarak zona pellusidayı sindirir ve sperm yumurta hücre ile karşılaştığı zaman, akrozomun zarı hücre zarıyla kaynaşıb akrozomal reaksiyona neden olur. Bu arada distal sentriyol aksonemi oluşturur ve kuyruk uzamaya başlar. Boyun çevresindeki aksonemi mitokondriler sarar ve spermin flagellumu meydana gelir. Boyun kısmındakı mitokondriler gerekli enerjiyi sağlayarak kuyruğun haraketini gerçekleştirir (Muciaccia, 2013).

4. Olgunlaşma Fazı: Spermiyogenez sürecinin son fazı olan bu aşamada spermatidler arasındakı bağlar ayrılır ve sitoplazmanın fazla parçacıkları sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Oluşan olgun sperm hücreleri seminifer tübülün lümenine geçer ve haraket yeteneklerini epididimisten alırken, döllenme yeteneklerini dişi genital kanallarında kazanmış olurlar. Olgun sperm hücresi baş, boyun, kuyruk adlanan 3 bölgeden oluşur; başta az miktarda sitoplazma, çekirdek ve akrozom bulunurken, boyun bölgesindeki mitokondriler kamçıya benzer kuyruk bölgesini haraketlendirir (Clermont, 1972; Fawcett, 1975).

2.3 Erkek İnfertilitesi ve Değerlendirilmesi

Klinik çalışmalardan elde edilen kanıtlar doğrultusunda erkek üreme problemlerinin arttığı görülmektedir. Erkek infertilitesinin patogenezi hormonal bozukluklar, kromozomal ve koital bozukluklara bağlı pretestiküler, varikosel, kanser, inmemiş testislere bağlı testiküler ve obstrüktif, otoimmün, aksesuar bez enfeksiyonlarına bağlı olarak posttestiküler nedenleri içerir (Krausz, 2011). Klinik araştırma stratejilerinde erkek faktörünün değerlendirilmesinde 3 yön dikkate alınmalıdır:

1. Anamnez tarihçesi: Daha önce kullandığı ilaçlar, kronik hastalıkları, sigara ve alkol tüketimi, sperm analizi veya tüp bebek işlemi yaptırıp yaptırmadığı, geçirmiş olduğu ameliyatlar, cinsel ilişki sıklığı;

2. Fizik muayene: Fiziksel görünüm (boy, kilo uygunluğu), vucut kıllanma durumu, testis boyutları, penis muayenesi, varikosel, hypospadias, gynecomastia gibi anomalilerin tespit edilmesi;

3. Semen analizi: Laboratuvar ortamında erkek hastadan alınan semen örneğinin incelenmesi (spermiyogram).

2.3.1 Semen analizi

Semen analizi, erkek faktörlü infertiliteyi değerlendirmek için kullanılan mühim öneme sahip testtir. Meni, prostat, seminal veziküller ve bulboüretral bezlerden gelen salgılarla, testis ve epididimisden salgılanan spermatozoanın karışımıdır. Semen analizi 2-7 günlük bir cinsel pehriz sonrası ayda 2 kez yapılmalıdır. Semen örneği masturbasyon yoluyla erkek hastadan steril bir şekilde numune kabına alınmalı, hasta önceden sabun ve kayganlaştırıcı ürünleri kullanılmaması konusunda bilgilendirilmelidir. Laboratuvar ortamına alınan bu örnek makroskopik olarak aşağıdakı şekilde incelenmelidir:

1. Likefaksiyon – Normal semen örneği 60 dakika içerisinde oda ısısında sıvılaşır, fakat bu işlem genellikle 15 dakika içinde gerçekleşir. Bazen enfeksiyon ve erkek üreme bezlerindeki oluşan aksaklıklar likefaksiyon süresinin uzaması durumuna neden olur.
2. Görüntüsü – Sağlıklı meni homojen, opak ve grimsi bir görünüme sahiptir. Ancak bazı sağlık problemlerinden kaynaklı olarak meni farklı renk (sarı, kırmızı-kahverengi, renksiz) ve kıvamda olabilir.
3. Volüm (Hacim) – Normosperm hacmi 1.4 – 5 ml olmalıdır.
4. Viskozite (Kıvam) – Meninin viskozluğu 5 ml'lik bir pipet yardımıyla değerlendirilir. Normal meninin pipetden küçük damlalar şeklinde ayrıldığını gözlemleyebiliriz. Bazı kronik enfeksiyon hastalıklar (prostatit,vezikülit) zamanı meninin kıvamlılığı gerektiğinden fazla artmış olabilir.
5. pH – Normal semen pH değeri 7.2-8'dir. pH 8 ve üzeri ise ölçümün geç yapıldığını veya enfeksiyon durumunu işaret ederken, 6.5'in altında olması ise boşalma yollarının tıkanıklığını, yardımcı bezlerin çalışmamasını, idrarın meniye karışmış olabileceği durumuna işaret ediyor.
6. Sperm Konsantrasyonu – Sperm konsantrasyon değeri en az 16 milyon/ml olarak kabul edilse de bu kesin olarak gebeliğin oluşacağını göstermez. Bu değerin altında

olan (örneğin 10 milyon/ml) numuneden gebelik oluşurken, sperm konsantrasyonu 60 milyon/ml değerdeki bir erkeğin eşinde gebelik oluşamayabilir.

7. Sperm Motilitesi (Hareketliliği) – Spermin hareketliği, orta ve kuyruk kısmının işlevselliği ile ilişkilidir. Bu kısımlardan kaynaklı sorunlarda (kuyruk anomalileri, varikosel vs) sperm hareket bozukluluğuna neden olabilir. Spermatozoanın haraketliliği aşağıdaki şekilde sınıflandırılır:

- A derece: ileri hızlı hareket
- B derece: yavaş doğrusal olmayan hareket
- C derece: yerinde hareket
- D derece: hareketsiz
- İleri motilite (A+B)>%30
- Total motilite %42

8. Sperm Morfolojisi – Sperm morfolojisi Kruger kriterilerine göre değerlendirilir ve normal değer %4 üzeri kabul edilir. Sperm şekil özellikleri özel boyama tekniği sayesinde incelenir ve döllenme kapasitesi belirlenir. Boyama sonrası spermin baş, boyun ve kuyruk anomalilerini açık şekilde görmek mümkündür. Normal sperm başın %40-70'ini oluşturan iyi tanımlanmış bir akrozomal bölgeye sahipken, kuyruk kısmı orta kısımdan biraz daha ince ve %30 orana denk gelmelidir (MacLeod,1951; Kvist, 2002; WHO, 1999).

Tablo 1 DSÖ (WHO) 2021 semen analizi alt referans değerleri

Parametreler	**Alt Referans Değerleri**
Semen Volümü (mL)	1.4
Toplam Sperm Sayısı (10^6/ ejekülat)	39
Sperm Konsantrasyonu (10^6/ml)	16
Total Motilite (%)	42
İleri Motilite (%)	30
Sperm morfolojisi (normal, %)	4 (3-4)
pH	≥ 7.2
Peroksidaz pozitif lökosit (10^6/ml)	<1.0

Dünya Sağlık Örgütüne göre bazı spermiyogram bozuklukları:

- Azospermi: Ejekülatta sperm bulunmaması
- Kriptozoospermi: İlkin kontrolde sperm bulunmamasına rağmen detaylı inceleme sonrası sperm varlığı
- Oligospermi: <15 milyon/ml sperm sayısı
- Astenozoospermi: %32 ileri hareket sperm oranı
- Teratozoospermi: <%4 normal morfoloji sperm oranı (WHO, WHO Laboratory Manual for the Examination and Procesing of Human Semen, 2010).

2.3.1.1 Azospermik ve Kriptozoospermi

Son 30 yıl içerisindeki iki büyük gelişme erkek infertilitesinin tedavisi konusunda önemli katkı sağlamıştır. İlki, erkek faktörü kaynaklı infertilitenin tedavisi için ICSI geliştirilmesi, ikincisi epididimisten veya testisten elde edilen spermatozoanın normal döllenme yeteneğine sahip olduğunun gösterilmesiyle TESE'nin azospermik erkeklere uygulanması gibi gösterilebilir (Ron-El, 1997). Ejakülatta spermatozoanın tamamen yokluğu olarak tanımlanan azospermi mutlaka infertilite anlamına gelmez. Aslında, azospermi erkek infertilitesinde en ilgi çekici konulardan biri olarak kabul edilmiştir. Klasik fizyoloji, biyokimya ve moleküler biyoloji disiplinlerini içeren araştırmaların yapılması, azospermi ile ilgili bilimsel bilgi hacminde hızlı bir artış sağlamıştır. Bu durum, azosperminin çok yönlü ve daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır. Bununla birlikte, literatürde yaygın klinik uygulamaları destekleyen nispeten az veri bulunmaktadır. Azospermiye bağlı infertilitenin kapsamı, genetik araştırmalar, hormonal kontrol, mikrocerrahi ve medikal tedavi, yardımcı üreme teknikleri ve yapay gamet oluşturmayı amaçlayan yenilikçi kök hücre araştırmalarını içeren geniş bir yelpazeyi kapsamaktadır (Honig, 1994).

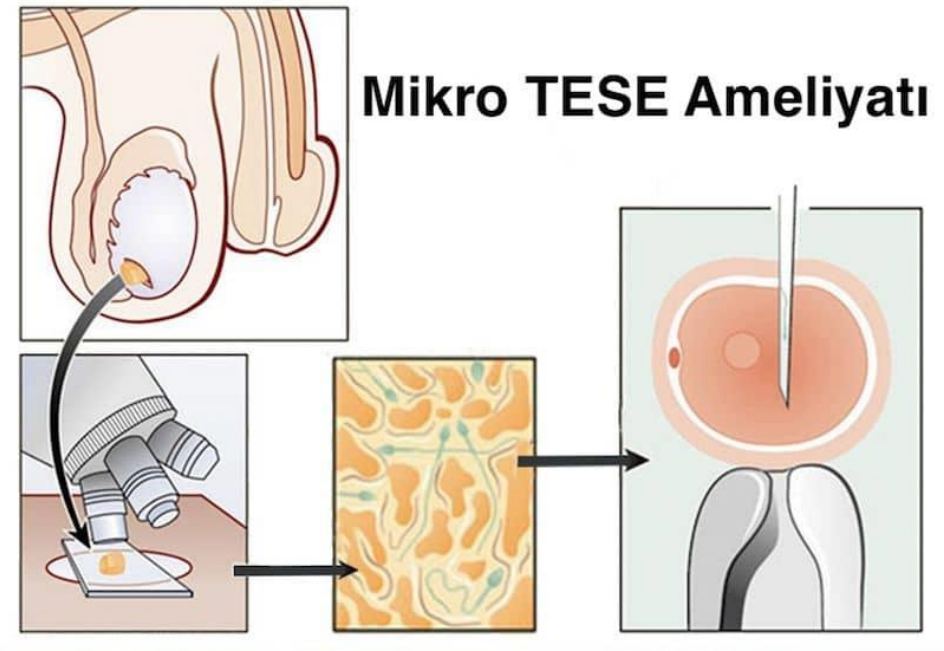
Klinik ortamda, azospermik hastalara obstrüktif azospermi (OA) veya obstrüktif olmayan azospermi (NOA) teşhisi konur. OA, epididim ve boşalma kanalı dahil olmak üzere üreme sistemi boyunca herhangi bir yerde meydana gelebilecek mekanik bir tıkanmaya bağlanmıştır. OA, erkek infertilitesi için en uygun prognostik koşullardan biri olarak kabul edilir çünkü NOA'nın aksine spermatogenez bozulmaz (Esteves, 2015; Ibtisham, 2017)

Baker ve Sabanegh, OA'deki rekonstrüktif prosedürlerin güncel endikasyonlarını, tekniklerini ve sonuçlarını tartışıyorlar. Vazektomi sonrası rekonstrüktif prosedürlerin sonuçları mükemmel olsa da özellikle OA'nın diğer etiyolojik kategorilerinde, başka karmaşık onarımlar gerekebilir. Son derece başarılı olmasına rağmen, TESE, rekonstrüksiyon OA'li tüm erkeklerde, örneğin konjenital bilateral vaz deferens yokluğu (CBAVD) olan hastalarda ve bazı enfeksiyon sonrası tıkanıklık veya başarısız vazektomi geri dönüşü vakalarında yeterli olmayabilir (Karen, 2013).

Kriptozoospermi, sperm konsantrasyonunun mililitre meni başına 100.000 spermden az olması olarak tanımlanır. Azospermi, erkek faktörlü infertilite vakalarının %20'sinde ve bir bütün olarak erkek popülasyonunun yaklaşık %1'inde görülür. Çoğu zaman, sperm sayısı başlangıçta sıfır olarak ölçülebilir ve bu durumun "sanal azospermi" olarak bilinmesine neden olur. Sperm daha sonra meni bir santrifüjden geçirilip mikroskopta incelendikten sonra bulunabilir. Türkiye'deki tüp bebek merkezlerinde yapılan bir araştırma, erkek faktörlü infertilite vakalarının %27,2'sinde kriptozoosperminin bulunduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, prevalansın hastaların genetikleri, yaşları, yaşam tarzları ve bölgeleri dahil olmak üzere geçmişlerine göre değiştiğini kaydetti (WHO, İnsan semeninin incelenmesi ve işlenmesi için DSÖ Laboratuvar el kitabı., 2010) Yardımcı üreme tekniklerine azospermi ve kriptozoospermi hastaları için tipik olarak ihtiyaç duyulurken, normospermik erkeklerin eşleri genellikle doğal olarak gebe kalabilirler (Jarow,1989). Bu tanımlar ayırt edilmesi zor olabildiğinden androloglar (erkek doğurganlığı ve sperm sağlığı uzmanları) bazen teşhis etmekte zorluk yaşayabilmektedirler (Shai, 2006).

2.3.2 Testislerden sperm elde etme yöntemi (Mikro-TESE)

Menide spermatozoa bulunmayan azospermik hastalardan mikro cerrahi yöntemle anestezi altında testislerden sperm bulmak için doku alınır; bu işlem TESE adlandırılmaktadır.



Şekil 3 Mikro-TESE uygulaması (https://drahmethakan.com/mikro-tese/)

Şekil 3'te gösterildiği gibi TESE operasyonu sonrası elde edilen spermler intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunda (ICSI) kullanılarak sağlıklı gebeliklerin oluştuğu görülmektedir. Geçmişte uygulanan klasik TESE-biyopsi işleminin aksine günümüzde tedavi yöntemi olarak mikro-TESE uygulanmaktadır. Klasik TESE-biyopsi ile karşılaştırıldığında Mikro-TESE yöntemi ile sperm elde etme oranı %60 oranında artar (Schlegel, 2009). Mikro-TESE yöntemi ilk defa 1999 yılında Schlegel tarafından tanımlanmıştır. Mikro-TESE'nin avantajlarının yanı sıra, testiste geniş kesik gerektirmesi ve boydan boya açılması, ameliyat sonrasında hormonal bozukluklarına bağlı cinsel isteksizliğin yaranması, ameliyatın maliyetli olması gibi dezavantajlarının olması da mümkündür (Schlegel, 1997; Takada, 2008). Yapılan araştırmalara göre mikro-TESE öncesinde azospermili hastalardan sperm bulmanın keskinleştirdiği herhangi bir tanısal parametre bulunmamaktadır. Buna rağmen, günümüzde sperm bulma olasılığına etki edecek parametrelerin geliştirilmesine devam edilmektedir. Bunlar testisin boyutu ile sperm bulma ihtimali, FSH ve inhibin B'nin TESE'de sperm bulma ihtimalleri üzerine araştırmalar devam etmektedir. Ancak EAU 2012-13 kılavuzlarına göre bu ihtimaller ile sperm bulma olasılığı arasında herhangi bir ilişki bulunmamaktadır. Sadece genetik açıdan Y kromozom mikrodelesyonuna bağlı AZFa, AZFb olan olgularda mikro-TESE önerilmemektedir. AZFc olgularında ejakulatta spermatozoa bulunabilme olasılığı olsa

da AZFa, AZFb kombine delesyonlarda TESE'de sperm bulunamayacağı kabul edilmektedir (Krausz, 2000).

2.3.3 ICSI ve Fertilizasyon kontrolü

Granüloza hücrelerinden arınmış oosit içine tek bir sperm hücresini enjekte etme işlemi mikroenjeksiyon (ICSI- İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu) tekniğidir. Bu teknik ilk defa 1992 yılında Palermo ve arkadaşları tarafından uygulanmış ve ilk gebelik elde edilmiştir. ICSI uygulanan hastadan gebelik oluşumuyla ilgili ilk rapor alındıktan sonra bu yöntem diğer tüm Avrupa ülkelerine yayılmış ve oradan da küresel olarak genişlemiştir (Palermo, 1992). Dünya üzerinde 60'tan fazla ülke (OPU döngülerinin %55 Asya, %100 kadar Orta Doğu) ICSI'yi tercih edilen ÜYTE yöntemi olarak kullanmaktadır (Dyer, 2016). Başlangıçta ICSI, sperm sayısının azlığı, bozuk motiliteye sahip spermin oosit ile karşılaştırma işlemi olsa da, sonradan diğer sebeplere bağlı (genetik anomaliler, DNA kontaminasyonu, HBV, HCV hastalarında, TESE sonrası, düşük oosit vs.) infertilite vakalarında da kendisini ispatlamıştır (Garrido, 2004; Palermo, 2015; Harton, 2011). ICSI işlemi Türkiye'de ilk kez 1994 yılında Özel Sevgi Hastanesi Tüp Bebek Merkezinde yapılmış ve canlı doğumlar elde edilmiştir (Kahraman, 1995).

Mikroenjeksiyon işlemi öncesinde kadından alınan oositler ve erkekten alınan sperm hücreleri uygun olacak şekilde hazırlanır, oositler kumulus hücrelerinden uzaklaştırılır, spermler de sayı ve motilite değerlerine uygun olarak swim-up veya gradient yöntemlerinden birisi ile yıkanır. ICSI işleminin yapılması için Metafaz II oositlerinin toplanmasına dikkat edilmeli, GV oositlerine mikroenjeksiyon yapılmamalıdır. Metafaz I oositlerin ise OPU işleminden 4-20 saatte Metafaz II oosit olduğu bilinmektetir ve bu durumda enjeksiyon yapılabilir (Rienzi, 1998; Nagy, 1996). Araştırmalar sonucu olarak oosit kalitesinin ICSI yapıldıktan sonra döllenme ve gebelik üzerinde doğrudan orantılı olduğu bilinmektedir (Loutradis, 1999). ICSI çok güçlü mikroskoplar ve mikromanipülatörler yardımıyla yapılır; embriyolog, ince cam holding pipeti yardımı ile bir yumurta hücreyi tutarak spermi ince cam mikroenjeksiyon iğnesi ile yumurtanın içine verir. İşlem sırasında titreşim oluşmaması adına mikromanipülatör titremeyi önleyen masa üzerine konulmalıdır. Isı değişiminin tesirinden gametleri koruma amaçlı olarak mikroskop yüzeyi ısıtıcılı olmalıdır.

Fertilizasyon kontrolü inseminasyondan 16-18 saat sonra yapılır. Oosit sitoplazmasında hem anneden hem babadan gelen iki adet pronükleusun (2PN) gözükmesi, onların merkezi olarak hizalanması ve iki adet polar cisimciğin görülmesi normal fertilizasyon göstergesidir (Küpker, 1998). ICSI yapılmış yumurta hücre fertilizasyon sonrasında %90 oranda klivaj (cleavage) evresine girer ve mitotik bölünmelerle çok hücreli embriyo haline gelir. Bazı durumlarda tek veya ikiden fazla pronükleus (PN) görülmektedir ve bu anormal fertilizasyon olarak bilinir (Capalbo, 2017).

3. YÖNTEM

Testis açılarak içerisindeki tübülüs kanalcıkları ameliyat mikroskopu yardımıyla 20-30 kat büyütülür ve opak beyazımsı, dolgun sperm kanalları ayırt edilir. Bu kanallar tespit edildikten sonra petri kabına konulur inverted mikroskopu altında doku parçalanarak olgun sperm hücresi aranır. Alınan dokuda sperm görülmüşse mini-gradient yöntemiyle spermler hazırlanır ve ICSI uygulamak amacıyla toplanır.

3.1 Araştırma Modeli

Yapılan araştırma retrospektif karşılaştırmalı bir çalışmadır.

3.2 Evren ve Örneklem

Çalışmaya 2010-2019 tarihleri arasında Acıbadem Altunizade Hastanesinin tüp bebek merkezinde infertilite nedeni ile tedavi gören TESE uygulanmış azospermik veya kriptozoospermik olan toplam 528 hasta dahil edildi.

Çalışmayı standardizasyonu için aşağıdaki hasta karakteristikleri dikkate alındı:

- Kadın yaşı < 35
- M II oosit sayısı >5
- ICSI uygulanmış
- TESE uygulanan azospermik
- Ejekülatla sperm alınan kriptozoospermik

hastalar dahil edildi. Bu kriterilere uyan 528 (1.grup azospermik n=256 ve 2.grup kriptozoospermik n=272) hasta çalışmanın örneklemini oluşturdu.

3.3 Veriler ve Toplanması

Veriler özel bir hastanenin tüp bebek merkezinin hasta kayıt arşivinden alınarak incelendi. Çalışmaya alınan 528 hastanın infertilite süresine, kadın yaşı, ET günlerine ve Freezing durumlarına bakıldı. ICSI işlemi için seçilen M II oositler seçildikten sonra fertilizasyon kontröl edildi ve normal gelişim gösteren embriyoların bir kısmına transfer

işlemi yapılırken artan embriyolara freezing işlemi yapılarak saklandı. Transfer yapılan hastaların 10-12 gün sonra beta hCG değerlerine bakıldı ve pozitif gebelik durumları, kese sayıları kayıt edildi.

3.4 Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım gösteren nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Bağımsız gruplar t testi, Normal dağılım göstermeyen nicel değişkenlerin iki grup arası karşılaştırmalarında Mann-Whitney U test kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test, Fisher-Freeman-Halton exact test ve post hoc analizler kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $p<0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

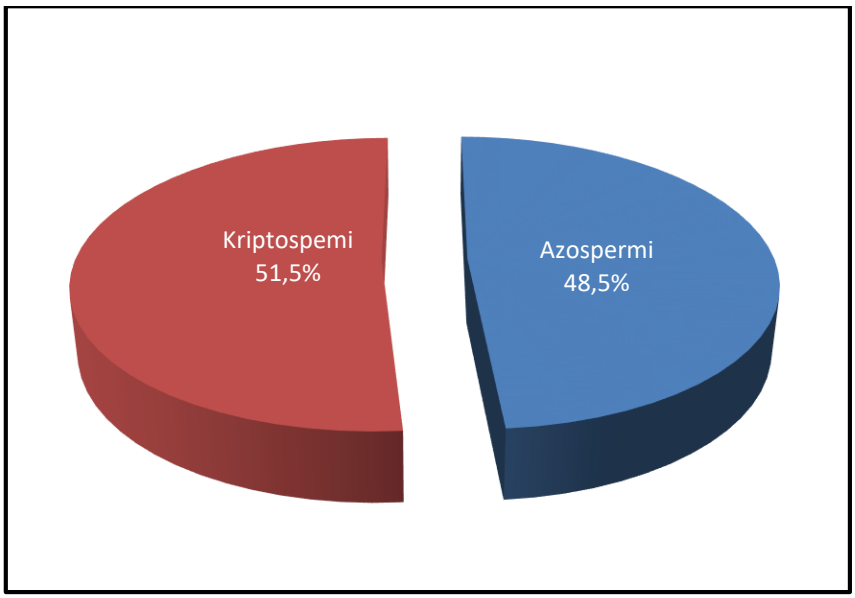
Çalışma 2010-2019 tarihleri arasında Acıbadem Altunizade Hastanesinin Tüp Bebek Merkezinde Yardımcı Üreme Teknikleri uygulanarak tedavi gören (n=528) çiftlerin fertilizasyon ve gebelik bulgularını kapsamaktadır.

4.1 Bulgular

Tablo 2 Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımları

		n (%)
Gruplar	**Azospermi**	256 (48,5)
	Kriptozoospermi	272 (51,5)
ET yapılanların Gebelik durumu	**Gebelik yok**	193 (44,3)
	Gebelik var	243 (55,7)
Kese sayısı	**0 kese (biyokimyasal gebelik)**	58 (23,9)
	1 kese	139 (57,2)
	2 kese	46 (18,9)
Erkek yaşı	*Ort±Ss*	35,84±6,83
	Medyan (Min-Maks)	35 (21-67)
Döllenme	**Yok**	0 (0)
	Var	528 (100)
2PN embriyo sayısı	**≤5**	308 (58,3)
	≥6	220 (41,7)
Freezing	**Yok**	313 (59,3)
	Var	215 (40,7)
Total Freezing		92(42,7)
Parsiyel Freezing		123 (57,2)
ET günü	**3. günden önce**	61 (11,6)
	3. gün ve sonrası	375(71,0)
	ET yapılmayanlar	92(17,4)

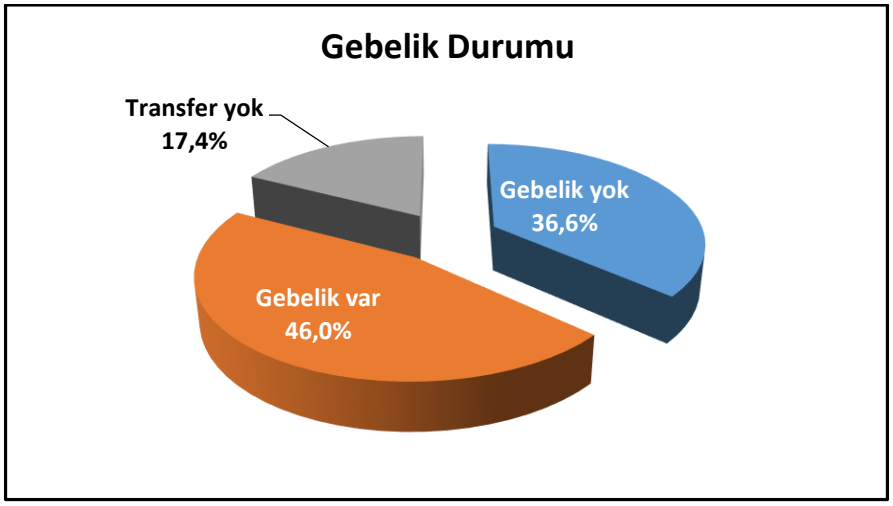
Araştırmamıza belirlenen kriterlere uygun 528 olgu dahil edilmiş, bu olguların %48,5'i (n=256) azospermi, %51,5'i (n=272) kriptozoospermi tanısı almıştır.



Şekil 4 Grupların dağılımları

Tablo 2'de görüldüğü gibi araştırmaya katılan 528 olgudan 92 tanesinde çeşitli sebeplerden dolayı embriyo transferi yapılamamış, 436 olguda embriyo transferi yapılmıştır.

Araştırmaya katılan olguların gebelik durumları incelendiğinde; ET yapılan 436 olgudan %44,3'ünde (n=193) gebelik görülmezken, %55,7'sinde (n=243) gebelik görülmüştür. 528 olgunun tamamı değerlendirildiğinde %46,0'sında gebelik oluştuğu, %36,6'sında gebelik oluşmadığı ve %17,4 ünde embriyo transferi yapılmadığı görülmüştür.



Şekil 5 Gebelik durumlarının dağılımları

Gebelik bildirilen 243 olgudan 185'inde kese oluştuğu, 58 olguda kese oluşmadığı bildirilmiştir.

Araştırmaya katılan olguların kese sayıları incelendiğinde; %23,9'unda (n=58) kese görülmediği, %57'2'sinin (n=139) 1 kese oluştuğu, %18,9'unun (n=46) 2 kese oluştuğu görülmüştür.

Olguların eşlerinin yaşları 21 ile 67 arasında değişmekte olup; ortalama yaş 36,08±6,94'tür.

Olguların %100'ünde (n=528) döllenme olduğu görülmektedir. 2PN sayılarına bakıldığında ≤5 olan %58,3 (n=308), ≥6 olan %41,7 (n=220) olduğu görülmüştür.

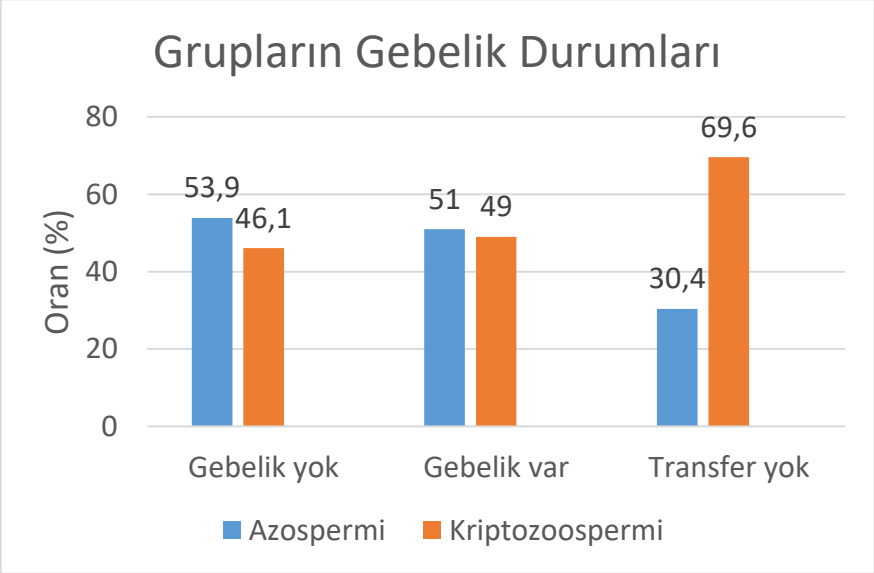
Olguların %59,3'ünde (n=313) freezing yapılmadığı, %40,7'sinde (n=215) freezing yapıldığı görülmüştür. Freezing yapılanlarda %43,3'ü (n=92) total freezing, %56,7'si (n=122) parsiyel freezing yapıldığı görülmüştür.

Tablo 3 Gruplara Göre Tanımlayıcı Özelliklerin Karşılaştırılması

		Azospermi	**Kriptozoospermi**	***p***
Gebelik durumu	**Gebelik yok**	104 (53,9)^{x}	89 (46,1)^{x}	*0,059*
	Gebelik var	124 (51,0)^{x}	119 (49)^{x}	*0,059*
	Transfer yok	28 (30,4)^{x}	64 (69,6)^{y}	***[q]0,001****
Kese sayısı	**0 kese**	30 (53,4)^{x}	28 (46,6)^{x}	*[q]0,449*
	1 kese	74 (53,2)^{x}	65 (46,8)^{x}	

	2 kese	20 (43,5)^{x}	26 (56,5)^{x}	
Freezing embriyo sayısı	**Yok**	167 (53,4)^{x}	146 (46,6)^{y}	^{b}***0,009*****
	Var	89 (41,4)^{x}	126 (58,6)^{y}	^{b}***0,008*****
Total freezing	**Yok**	60 (49,2)^{x}	62 (50,8)^{y}	^{b}***0,012****
	Var	29 (31,2)^{x}	64 (68,8)^{y}	^{b}***0,008*****
Parsiyel freezing	**Yok**	29 (31,2)^{x}	64 (68,8)^{y}	^{b}***0,008*****
	Var	60 (49,2)	62 (50,8)	^{b}***0,012****
2PN sayısı	**≤5**	160 (51,9)^{x}	148 (48,1)^{x}	
	≥6	96 (43,6)^{x}	124 (56,4)^{y}	^{b}***0,036****
ET	**Yok**	29 (31,2)^{x}	64 (68,8)^{y}	^{b}***0,001*****
	Var	227 (52,2)^{x}	208 (47,8)^{x}	
ET günü	**< 3.gün**	40 (65,6)^{x}	21 (34,4)^{y}	^{b}***0,000******
	≥ 3.gün	188 (50,1)^{x}	187 (49,9)^{x}	
	ET yapılmayan	28 (30,4)^{x}	64 (69,6)^{y}	***0,000******

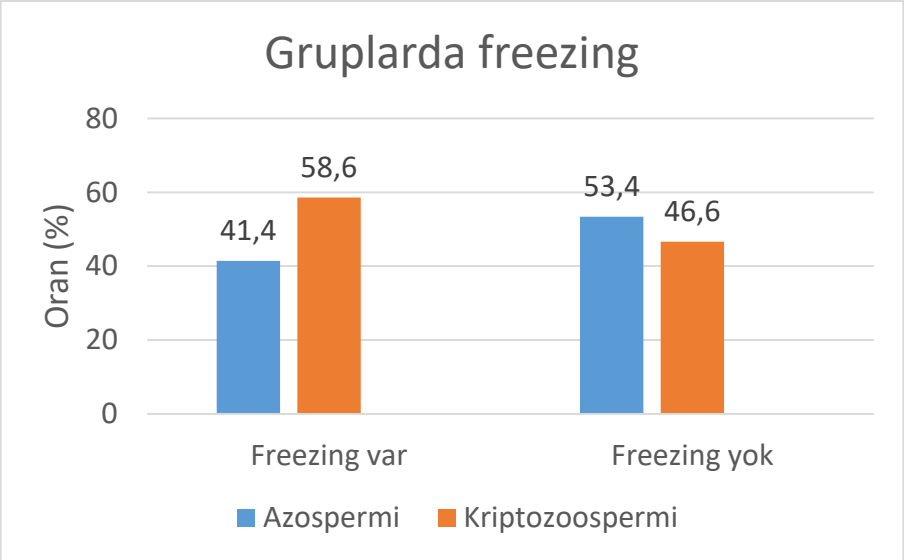
*^{a}Fisher Freeman Halton Test ^{b}Chi-Square Test ^{c}Student-t Test *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001*
$^{x-x}$ fark yok, $^{x-y}$ fark var



Şekil 6 Grupların gebelik oranlarının dağılımı

Şekil 6'da gösterildiği gibi gruplara göre olguların gebelik durumları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,001; p<0,01). Kriptospermi grubundaki olguların azospermi grubundan, transfer olmama oranı daha fazla (p=0,001; p<0,01). Kriptospermi grubundaki olgularda gebelik görülmeme oranı, azospermi grubuna göre anlamlı olmamakla birlikte dikkat çekici düzeyde düşük saptanmıştır (p=0,059; p>0,05).

Tablo 3'te gösterildiği gibi gruplara göre olguların kese sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).



Şekil 7 Gruplarda Freezing dağılımı

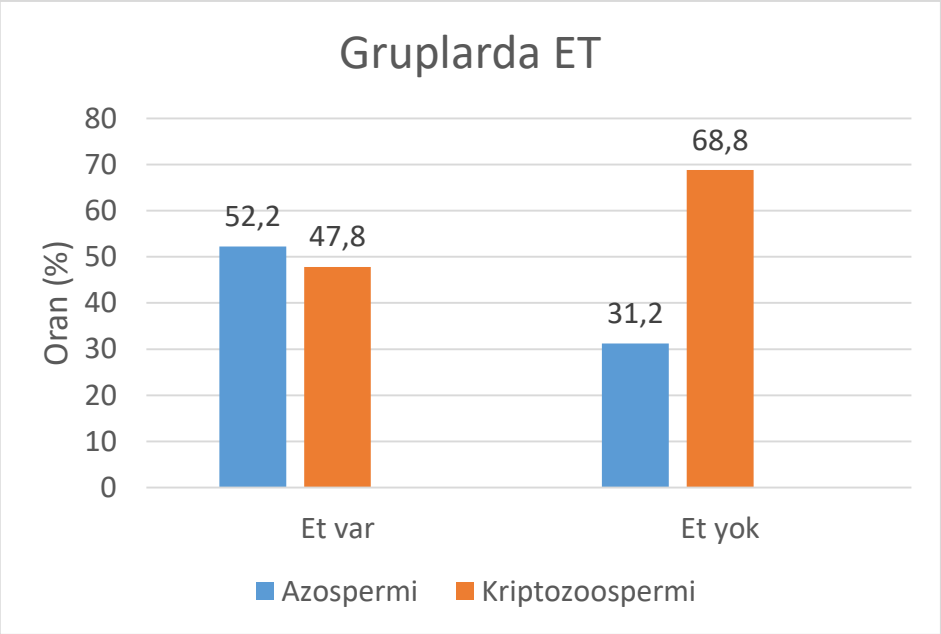
Şekil 7'da görüldüğü gibi kriptozoospermi grubundaki olgularda freezing görülme oranı, azospermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır (p=0,008; p<0,01).

Kriptozoospermi grubundaki olgularda total freezing yapılma oranı, azospermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır (p=0,008; p<0,01).

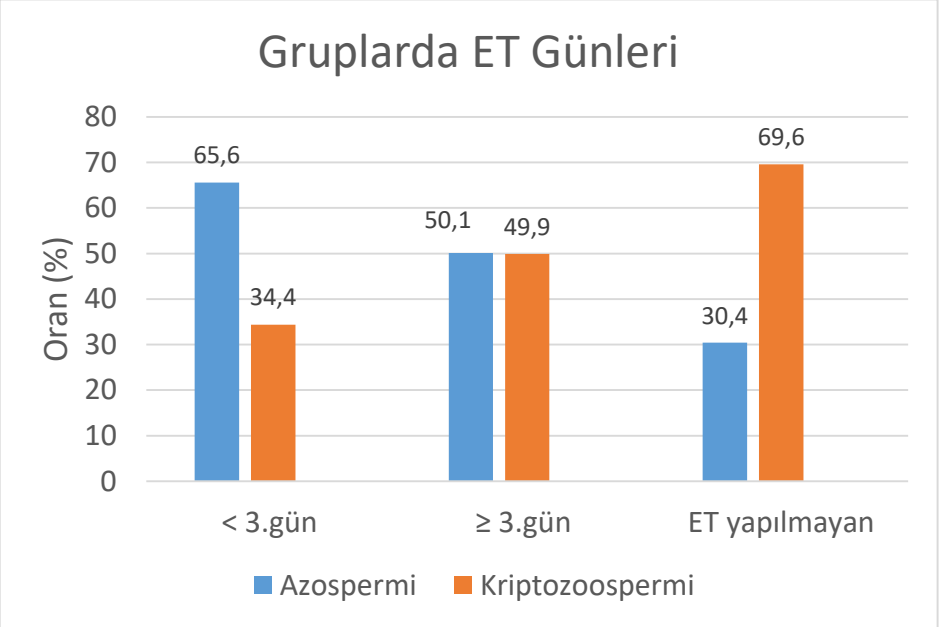
Kriptozoospermik ve azospermik olgularda parsiyel freezing yapılma oranları arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Kriptozoospermi grubundaki olgularda 2PN sayısı ≥6 olanların oranı, azopermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır (p=0,036; p<0,05).

Şekil 8'de görüldüğü gibi azospermi grubundaki olgularda ET olma oranı kriptozoospermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır (p=0,001; p<0,01).



Şekil 8 Gruplarda ET varlığının dağılımı



Şekil 9 Gruplarda ET günlerinin dağılımı

Şekil 9'da görüldüğü gibi azospermi grubundaki olguların ET gününün < 3.gün olma oranı kriptozoospermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır (p=0,000; p<0,01).

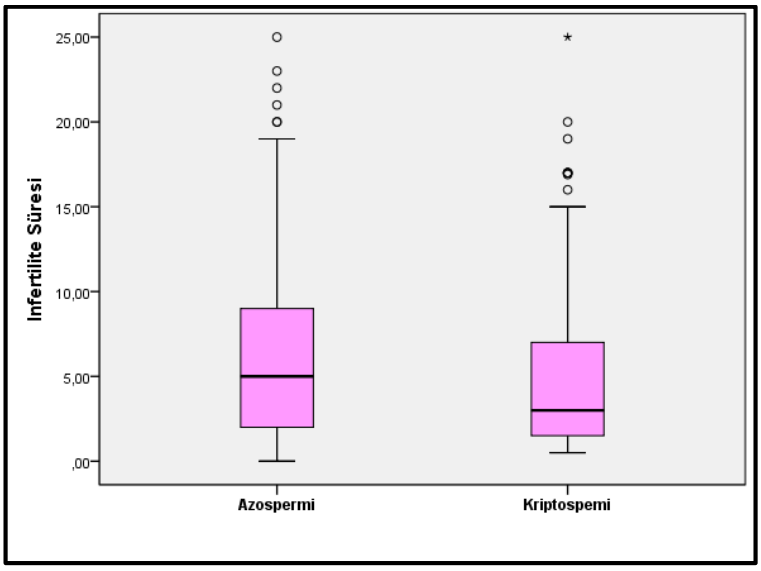
Tablo 4 Gruplara Göre Ölçüm Değerlerinin Karşılaştırılması

		Azospermi	**Kriptospermi**	***p***
İlk βHCG	*Ort±Ss*	119,13±124,11	146,67±151,27	***[d]0,255***
	Medyan (Min-Maks)	75 (0,1-700)	93,5 (0,1-791)	
İnfertilite süresi	*Ort±Ss*	5,98±5,31	4,84±4,56	***[d]0,022****
	Medyan (Min-Maks)	5 (0-25)	3 (0,5-25)	
Eş yaş	*Ort±Ss*	36,37±7,71	35,35±5,87	***c0,091***
	Medyan(Min-Maks)	35 (21-67)	35 (24-53)	
Oosit sayısı	*Ort±Ss*	11,37±5,67	11,18±6,17	***[c]0,717***
	Medyan (Min-Maks)	10 (3-32)	10 (3-36)	
M2 sayısı	*Ort±Ss*	8,05±4,03	8,14±4,12	***[c]0,811***
	Medyan (Min-Maks)	7 (3-21)	7 (3-24)	

*[b]Chi-Square Test [c]Student-t Test [d]Mann-Whitney U Test *p<0,05*

Tablo 4'te görüldüğü gibi azospermi grubundaki olguların ilk βHCG değerleri kriptozoospermi grubundakilerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,255; p>0,05).

Şekil 10'da görüldüğü gibi azospermi grubundaki olguların infertilite süresi değerleri kriptozoospermi grubundakilerden istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmıştır (p=0,022; p<0,05).



Şekil 10 Gruplarda infertilite süresinin dağılımı

Gruplara göre olguların eşlerinin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek saptanmamıştır (p>0,05).

Gruplara göre olguların ilk BHCG, oosit sayıları ve M2 sayıları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

4.2 Tartışma

TESE, azospermik ve kriptozoospermik erkekler için sperm elde etmede en uygun yöntemlerden biridir. Obstrüktif ve non-obstrüktif azospermik vakalar araştırıldığında TESE'nin OA olgularında %100, NOA olgularında bu oranın %60 olduğu bildirilmiştir. Bu sebeple non-obstrüktif azospermili hastalarında sperm bulma oranını arttırmak adına daha fazla doku alınmaktadır (Verza, 2011; Esteves, 2013). Schlegel ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada TESE tekniğinin NOA vakalar üzerinde başarılı olduğu gösterilmiştir. 16 testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) girişiminin 10'unda (%62) testis biyopsilerinden sperm elde edildi. Spermin elde edildiği sikluslar için, 10 çiftte testis spermi enjekte edilen 98 matür oositin 51'inde (%52) normal fertilizasyon sağlandı. 16 çiftten 5'inde (%31) klinik gebelikler ve 16 denemeden 4'ünde (%25) devam eden gebelik ve ardından canlı doğum sağlandı (Schlegel, 1997). Obstrüktif ve non-obstrüktif azospermik hastalarda sperm kaynağı ve konsantrasyonuna göre 4 grupa ayrılan bir diğer çalışmada ise testiküler olarak elde edilmiş spermlerin döllenme oranları üzerinde olumlu

etki gösterdiği bildirilmiştir (Bükülmez, 2001). TESE uygulanan bir diğer NOA vakasında ise %40.5 oranda sperm bulunarak, %37 gebelik oluşmuş ve bu gebeliklerin %13.4'ünde canlı doğum bildirilmiştir (Vloeberghs, 2015). Yapılan araştırmalarda kriptozoospermik vakalarda TESE spermi kullanmanın fertilizasyon ve toplanan oosit sayıları açısından anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir (Abhyankar, 2016; Tsai, 2011). Yi-No Kang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir meta-analizde ise TESE'den elde edilen spermlerin kriptozoosperm olgularında ejekülat spermine kıyasla yüksek kaliteli embriyo, implantasyon ve gebelik oranı sağladığı gözlenmiştir (Yi-No Kang, 2018). Bizim çalışmamızda kriptozoospermik vakalarda azospermik vakalara oranla 2PN sayısı ≥6 olanların sayısı yüksek bulunmuştur. Gebelik oranları değerlendirildiğinde transfer yapılmış olan vakalarda gebelik oluşan ve gebelik oluşmayan azospermik vakaların sayısı kriptozoospermik olanlara göre sayıca yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda gruplara göre olguların eşlerinin yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek fark saptanmamıştır. Literatürde erkek yaşının ICSI sonuçları üzerindeki etkisi hakkında az sayıda araştırma bulunmaktadır (Spandorfer, 1998; de La Rochebrochard, 2006). Bir kohort çalışmasında artan yaşla birlikte azalan semen hacmi ve sperm haraketliliğinden bahsedilse de, baba yaşının gebelik ve canlı doğum üzerinde bir ilişki bulunamamıştır (Whitcomb, 2011.) Sharma ve arkadaşlarının araştırmalarına göre ileri yaş erkek faktörünün spermde DNA fragmantasyonlarına neden olabileceği yönündedir (Sharma, 2015). Yüksek sperm DNA fragmantasyonun fertilizasyon oranlarında problem oluşturmadığı, ancak gebelik oranlarında düşük sonuç oluşturduğu bildirilmiştir (Henkel R, 2003). Kadınlarda ise ileri yaş gebe kalabilme ihtimalini azaltmaktadır (Baird, 2005). Doğan ve arkadaşları ICSI yapılan 107 kadın olguda 3 ileri yaş grubunu retrospektif olarak inceledi ve toplanan oosit sayısının, döllenen oosit sayısının yaşla birlikte azaldığını gözlemledi (Doğan, 2014). Bu sebeple çalışmamıza <35 yaş kadınların sonuçlarını incelemeye aldık ve gruplara göre olguların, oosit sayıları, M2 sayılarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığını gözlemledik.

İki grup kıyaslandığında embriyo transferinin <3.gün yapılması azospermik vakalarda kriptozoospermik vakalara oranla yüksek bulundu. Bunun aksine freezing yapılan embriyo oranının kriptozoospermik vakalarda, azospermik olanlara göre yüksek olduğu

görüldü. Geçmiş yıllarda klivaj evre embriyo transferi yapılması daha uygun görülse de son yıllarda kültür medyumlarının geliştirilmesi ile blastokist evre embriyo transferi yapılmaktadır (Gardner, 2009). Yapılan çalışmalar eşit sayıda taze embriyo transferlerinde; 5.gün embriyo transferinin, 3. Gün transferlerine oranla canlı doğum oranlarının daha yüksek olduğu saptanmıştır (Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, 2018; Papanikolau, 2008). Fakat, diğer bir çalışmada kümülatif gebelik açısından anlamlı bir farkın olmadığı bildirilmiştir (Glujovsky, 2016).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada azospermik ve kriptozoospermik olarak toplam 528 hasta 2 grup halinde retrospektif olarak karşılaştırıldı. Araştırmaya katılan 528 olgudan 92 tanesinde çeşitli sebeplerden dolayı embriyo transferi yapılamamış, 436 olguda embriyo transferi yapılmıştır. ET yapılan 436 olgudan 193'ünde gebelik görülmezken, 243'ünde gebelik görülmüştür. Çalışmada azospermik hastaların infertilite süresi kriptozoospermiklere oranla daha yüksektir. Kese sayılarında anlamlı bir fark görülmese de, kriptozoospermi grubundaki olguların azospermi grubundan, döllenme, total freezing ve transfer yapılamama oranı daha fazla bulunmuştur.

Sonuç olarak kriptozoospermik vakalarda fertilizasyonun ve embriyo transferinden sonra kalan dondurulacak embriyo sayılarının daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu değerlendirmeden hareketle kriptozoospermik vakalarda TESE uygulamanın ejekülat spermine tercih edilmesinin fertilizasyon ve dondurulacak embriyo sayılarını arttırsa da transfer ve gebelik oranını değiştirmeyeceği yargısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abhyankar, N., Kathrins, M., Niederberger, C. (2016). Use of testikular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with cryptozoospermia: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 105: 1469-75. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.02.013

Baird, D. T., Collins, J., Egozcue, J., Evers, L. H., Gianaroli, L., Leridon, H., vd. (2005). Fertility and ageing. *ESHRE Capri Workshop Group. Hum Repod Update*, 11(3): 261-76. doi: 10.1093/humupd/dmi006

Baker, K., ve Sabanegh, E. Jr. (2013). Obstructive azoospermia: reconstructive techniques and results. *Clinics (Sao Paulo)*, 68 Suppl 1(Suppl 1):61-73. doi: 10.6061/clinics/2013(sup01)07.

Bükülmez, O., Yücel A., Yarali, H., Bildirici, I., ve Gurgan, T. (2001). The orjin of spermatozoa does not affect intracytoplasmic sperm injection outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 94(2): 250-5. doi: 10.1016/s0301-2115(00)00347-x

Capalbo, A., Treff, N., Cimadomo, D., Tao, X., Ferrero, S., Vaiarelli, A., vd. (2017, Dec). Abnormally fertilized oocytes can results in healthy live births: improved genetic technologies for preimplantation genetic testing can be used to rescue viable embryos in in vitro fertilization cycles. *Fertil Sertil*, 108(6):1007-1015.e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.08.004

Choy, J. T., ve Michael, L. E. (2018). Male infertility as a window to health. *Fertil Steril*, 110(5):810-814. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.08.015

Clermont, Y. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*, 52(1):198-236. doi: 10.1152/physrev.1972.52.1.198

Craft, I., Bennett, V. ve Nicholson, N. (1993). Fertilising ability of testicular spermatozoa. *The Lancet*, 342(8875):864. doi: 10.1016/0140-6736(93)92722-6

de La Rochebrochard E., de Mouzan J., Thepot, F., ve Thonneau, P. (2006). Fathers over 40 and increased failure to conceive: the lessons of in vitro fertilization in France. *Fertil Steril*, 85(5):1420-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.11.040

Doğan, S. S., Kovalı, M., Doğan, Ö. E., ve Gülekli, B. (2014). İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulanan 39 yaş ve üzeri infertil kadınlarda prognostik faktörlerin gebelik başarısına etkileri. *J Turk Soc Obstet Gynecol*, 2:78-83. doi: 10.4274/tjod.73604

Dyer, S., Chamber, G. M., de Mouzon, J., Nygren, K. G., Hochschild, F. Z., Mansour, R., vd. (2016). International committee for monitoring assisted reproductive technologies world report: assisted reproductive technology 2008, 2009 and 2010. *Human Reproduction*, 31; 1588–1609. doi: 10.1093/humrep/dew082

Esteves, S.C., Lee, W., Benjamin, D. J., Seol, B., Verza Jr, S., ve Agarwal, A. (2013). Reproductive potential including neonatal outcomes of men with obstructive azoospermia undergoing percutaneous sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection according to the cause of obstruction. *J Urol*, 189(1): 232-7. doi: 10.1016/j.juro.2012.08.084

Esteves, S. C. (2015). Clinical management of infertile men with nonobstructive azoospermia. *Asian J Androl*, 17(3):459-70 doi: 10.4103/1008-682X.148719

Fawcett, D.W. (1975). The mammalian spermatozoa. *Dev Biol*, 44(2): 394-436. doi: 10.1016/0012-1606(75)90411-x

Gardner, D. K., Weissman, A., Howles, C., ve Shoham, Z. (2009). Culture systems for the human embryo. Gardner. D.K ve Lane. M (Thirt Ed.) *Textbook of Assisted Reproductive Technologies* içinde (pp. 219-240). New York : Informa HealthCare.

Garrido, N., Meseguer, M., Bellver, J., Remohi, J., Simon, C., ve Pellicer, A. (2004). Report of the results of a 2 year programme of sperm wash and ICSI treatment for human immunodeficiency virus and hepatitis C virus serodiscordant couples/. *Human Reproduction 19*, 2581–2586. https://doi.org/10.1093/humrep/deh460

Glujovsky, D., Farqufar, C., Retamar, A. M. Q, Sedo, C. R. A., ve Blake, D. (2016). Cleavage stage versus blastocyst stage embryo transfer in assisted reproductive

techology. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 30;(6). doi: 10.1002/14651858.CD002118.pub5

Goldstein, M., ve Schlegel. P. N. (1st ed.). (2013). *Surgical and medical management of male infertility*. United Kingdom: Cambridge University Press.

Grudzinkas, J. Y., ve Yovich, J. L. (Ed.). (1988). *The Spermatozoon.* United Kingdom: Cambridge University Press.

Haliloğlu, H. A., (2023) " Mikro Tese Ameliyatında Bulunan Spermlerin Hareketsiz Olması - Şekil 3'teki Mikro-TESE uygulaması ile ilgili görsel - https://drahmethakan.com adlı siteden 20 Ocak 2023 tarihinde https://drahmethakan.com/mikro-tese/ adresinden alındı.

Harton, G. L., Magli, M. C., Lundin, K., Montag, M., Lemmen, J., ve Harper, J. C. (2011). ESHRE PGD Consortium/Embryology Special Interest Group – best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). *Human Reproduction*, 26 (1), 41-46. https://doi.org/10.1093/humrep/deq265

Henkel, R., Kierspel, E., Hajimohammad, M., Stalf, T., Hoogendijk, C., Mehnert, C., vd. (2003). DNA fragmentation of spermatozoa and assisted reproduction technology. *Reprod Biomed Online*, 7(4):477-84. doi: 10.1016/s1472-6483(10)61893-7

Honig, S. C., Lipshultz, L. I., ve Jarow, J. (1994). Significant medical pathology uncovered by a comprehensive male infertility evaluation. *Fertil Sertil*, 62(5):1028-34. Erişim adresi: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7926114/ Son erişim tarihi: 20.11.2022 https://byjus.com/biology/spermatogenesis/

Ibtisham, F., Wu, J., Xiao, M., An, L., Banker, Z., Nawab, A., vd. (2017). Progress and future prospect of in vitro spermatogenesis. *Oncotarget*, 27;8(39):66709-66727. doi: 10.18632/oncotarget.19640

Jarow, J. P., Espeland, M. A., Lipshultz, L. I. (1989). Evaluation of the azoospermic patient. *J Urol*, 142(1):62-5. doi:10.1016/s0022-5347(17)38662-7

Kahraman, S., Alataş, C., Taşdemir, M., Nuhoplu, A., Aksoy, S.,ve Biberoğlu, K. (1995). Simultaneous bilateral tubal pregnancy after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction 12,* 3320-3321. doi:10.1093/oxfordjournals.humrep.a135911

Krausz, C., Quintana-Murci, L., ve McElreavey, K. (2000). Prognostic value of Y deletion analysis: what is the clinical prognostic value of Y chromosome microdeletion analysis? *Hum Reprod*, 15(7): 1431-4. doi: 10.1093/humrep/15.7.1431

Krausz, C. (2011). Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab,* 25(2): 271-85. doi: 10.1016/j.beem.2010.08.006

Küpker, W., Diedrich, K., ve Edwards, R. G. (1998). Principles of mammalian fertilization. *Human Reprod.*, 13 Suppl 1: 20-32. doi: 10.1093/humrep/13.suppl_1.20

Kvist, U., ve Björndahl, L. (2002). Manual on basic semen analysis : 2002. Oxford: Published in association with ESHRE by Oxford University Press. Erişim tarihi: 25 Ocak 2023. https://www.fivfrance.com/pro/pdf_NAFA_ESHRE2002.pdf.

Kyono, K., Uto, H., Nakajo, Y., Kumagal, S., Araki, Y., ve Kanto S. (2007). Seven pregnancies and deliveries from non-mosaic Klinefelter syndrome patients using fresh and frozen testicular sperm. *J Assist Reprod Genet*, 24(1): 47–51. doi: 10.1007/s10815-006-9079-4

Lehti, M.S., ve Sironen A. (2016). Formation and function of the manchette and flagellum during spermatogenesis. *Reproduction,* 151(4): 43-54. doi: 10.1530/REP-15-0310

Loutradis, D., Drakakis, P., Kallianidis, K., Milingos, S., Dendrinos, S., ve Michalas, S. (1999). Oocyte morphology correlates with embyro quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Sertil.*, 72 (2): 240-4. doi: 10.1016/s0015-0282(99)00233-2

Macleod, J., ve Gold, R.Z. (1951). The male factor in fertility and infertility. II. Spermatozoon counts in 1000 men of known fertility and 1000 cases of infertile marriage. *Journal of Urology,* 66: 436–449. doi: 10.1016/s0022-5347(17)74358-3

Mescher, A. L. Junqueira Basic Histology Text and Atlas (14th ed.). (2019). China: McGraw-Hill.

Moore, K. L. (2016). The Developing Human: Clinically Oriented Embryology (10. ed.). Philadelphia: Elsevier. 10 Mart 2022'de https://www.academia.edu/44502808/The_Developing_Human_Clinically_Oriented_Embryology_by_Keith_L_Moore adresinden indirildi.

Mosher, W. D., ve Pratt, W. F. (1991). Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril*, 56(2):192-3. 20 Kasım 2022 tarihinde https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2070846/ adresinden alındı.

Muciaccia, B., Boitani, C., Berloco, P., Nudo, F., Spadetta, G., Stefanini, M., vd. (2013). Novel stage classification of human spermatogenesis based on acrosome development. *Biol Reprod*, 19;89(3):60. https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.111682

Mruk, D. D., ve Cheng, C. Y. (2015). The Mammalian Blood-Testis Barrier. Its Biology and Regulation. *Endocrine Reviews*. doi: 10.1210/er.2014-1101

Nagy, Z. P., Cecile, J., Liu, J., Loccufier, A., Devroey, P., ve Sterieghem, A.V. (1996). Pregnancy and birth after intracyplasmic sperm injection of in vitro matured germinal-vesicle stage oocytes:case report. *Fertil Sertil.*, 65 (5) : 1047-50. doi: 10.1016/s0015-0282(16)58285-5

Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., ve Steirteghem, A. C. V. (1992). Pregnancies after intracytoplasmic injection of a single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*, 340(8810):17-8. doi: 10.1016/0140-6736(92)92425-f

Palermo, G. D., Neri, Q.V., ve Rosenwaks, Z. (2015). To ICSI or not to ICSI. *Seminars in Reproductive Medicine 33*, 92-102. doi: 10.1055/s-0035-1546825

Papanikolau, E. G., Kolibianakis, E., ve Devroey, P. (2008). Live Birth rates after transfer of equal number of blastocysts or cleavage-stage embyos in IVF. A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod.*, 23(1):91-9. doi: 10.1093/HUMREP/DEM339

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. (2018). Blastocyst culture and transfer in clinically assisted reproduction: a committee opinion. Society for Assisted Reproductive Technology and the American Society for Reproductive Medicine. *Fertil Steril*, 110(7):1246-1252. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.09.011

Rienzi, L., Ubaldi, F., Anniballo, R.., Cerulo, G., ve Greco E. (1998). Preincubation of human oocytes may improve fertilization and embryo quality after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, vol. 13, no. 4, pp. 1014-1019. doi: 10.1093/humrep/13.4.1014

Ron-El R, S. D. (1997). Extended sperm preparation: An alternative to testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 12(6):1222-6. doi:10.1093/humrep/12.6.1222

Ross, M. H., ve Pawlina, W. (2017). Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. (B. Baykal,Ed.) (6.). Ankara: Palme Yayınevi.

Schlegel, P.N., ve Su, L. M. (1997). Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Hum Reprod*, 12(8): 1688-92. doi: 10.1093/humrep/12.8.1688

Schlegel, P.N., Palermo, G.D., Goldstein, M., Menendez, S., Zaninovic, N., Veeck, L.L., vd. (1997). Testicular sperm extraction with intracytoplasmic sperm injection for nonobstructive azoospermia. *Urology*, 49(3):435-40. doi: 10.1016/S0090-4295(97)00032-0.

Schlegel, P. N. (1999). Testicular sperm extraction: microdissection improves sperm yield with minimal tissue excision. *Human Reproductive.* https://doi.org/10.1093/humrep/14.1.131

Schlegel, P. N. (2009). Nonobstructive azoospermia: a revolutionary surgical approach and results. *Sem Reprod Med*, 27: 165-170. doi: 10.1055/s-0029-1202305

Schoysman, R., Vanderzwalmen, P., Nijs, M., Segal, L., Segal-Bertin, G., Gerts, L., vd. (1993). Pregnancy after fertilisation with human testicular spermatozo. *The Lancet*. doi: 10.1016/0140-6736(93)92217-h

Shai, S. ve Turek, P. J. (2006). Definition and current evaluation of subfertile men. *International braz j urol 32*, 385-397. doi: 10.1590/s1677-55382006000400002

Sharma, R., Agarwal, A., Rohra, K.V., Asidi, M., Elmad, M. E., ve Turki, R.F. (2015). Effects of increased paternal age on sperm quality, reproductive outcome and associated epigeneic risks to offspring. *Reprod Biol Endocrinol*, 13: 35. doi: 10.1186/s12958-015-0028-x

Spandorfer, S. D, Avrech, O. M., Colombero, L. T., Palermo, G. D., ve Rosenwaks, Z. (1998). Effect of parental age on fertilization and pregnancy characteristics in couples treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 13:334-8. doi: 10.1093/humrep/13.2.334

Şeftalioğlu, A. (1996). *Genel İnsan Embriyolojisi*. Ankara: Tıp Teknik Yayıncılık.

Takada, S., Tsujimura, A., Ueda, T., Fujioka, H., Nonomura, N.,Okuyama, A., vd. (2008). Androgen decline in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *Urology*, 72:114-8. doi:https://doi.org/10.1016/j.urology.2008.02.022

Tsai, C. C., Huang F. J., Wang L. J., Lin Y. J., Kung F. T., Hsieh C. H., vd. (2011). Clinical outcomes and development of children born after intracytoplamic sperm injection (ICSI) using extracted testiccular sperm or ejaculated extreme severe oligo-astheno-teratozoospermia sperm: a comparative study. *Fertil Steril*, 96(3): 567-71. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.06.080

Vernaeve, V., Tournaye H., Osmanağaoğlu K., Verheyen G., Steirteghem A.V., ve Devroey P. (2003). *Intracytoplasmic sperm injection with testicular spermatozoa is succesful in men with nonobstructive azoospermia than in men with obstructive azoospermia*. Fertility and sterility. doi: 10.1016/s0015-0282(02)04809-4

Verza, S. Jr., ve Esteves, S.C. (2011). Microsurgical versus conventional single-Biopsy testicular sperm extraction in nonobstructive azoospermia: a prospective controlled study. *Fertil Steril*, 96 suppl: S53. doi: https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.07.201

Vloeberghs, V., Vheryen, G., Hantjens, P., Gossens, B., Polyzos, N.P., Turnuvasi, H. (2015). How succesful in TESE-ICSI in couples with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*, 30: 1790-6. doi: 10.1093/humrep/dev139

Weissman, A., Horowitz, E., Ravhon, E., Nahum, H., Golan, I., ve Levran, D. (2008). Pregnancies and live births following ICSI with testicular spermatozoa after repeated implantation failure using ejaculated spermatozoa. *Reproductive biomedicine online* 17 (5):605-9. doi: 10.1016/s1472-6483(10)60306-9

Westerlaken van der L., Helmerhorst, F., Dieben, S., ve Naaktgeboren, N. (2005). Intracytoplasmic sperm injection as a treatment for unexplained total fertilization failure or low fertilization after conventional in vitro fertilization. *Fertility and sterility* 83(3):612-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.08.029

Whitcomb, B.W., Levens, E. D., Fortner, R. T., Richter, K. S., Kipertzsok, S., Stillman R. J., vd. (2011). Contribution of male age to outcomes in assisted reproductive technologies. *Fertil Steril.*, 95:147-51. doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.06.039

Yi-No Kang., Ya-Wen Hsiao., Chien-Yu Chen ve Chien-Chih Wu. Testicular sperm is superior to ejaculated sperm for ICSI in cryptozoospermia: An update systematic review and metaanalysis. (2018) 8:7874 | doi:10.1038/s41598-018-26280-0

Zegers-Hochschild, F., Adamson, G. D., Mouzon, de J., İshihara, E., Mansur, R., Nygren, K., vd. (2009). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Tecnology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology. *Fertil Steril.* doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.09.009

Zhang, S. X. (1999). *Male reproductive system.* An Atlas of Histology. doi: 10.1007/978-0-387-21760-4_12

Zhou, Q., Wang, M., Yuan, Yan., Wang, X., Rui, F., Wan, H.,vd. (2016). Complete Meiosis from Embryonic Stem Cell-Derived Germ Cells In Vitro. *Cell Stem Cell*. https://doi.org/10.1016/j.stem.2016.01.017

ÖZGEÇMİŞ

Leyla MAMMADLİ

Eğitim

Derece	Yıl	Üniversite, Enstitü, Anabilim/Anasanat Dalı
Lisans	2015	Bakü Devlet Üniversitesi, Biyoloji Fakültesi, Biyoloji

İş/İstihdam (Varsa)

Yıl	Görev
2023 -	Biyolog. Ellab Diagnostic
2023-	Biyolog. LIV Bona Dea International Hospital
2021 -	Biyolog. Ege Hospital Reproduktiv Merkez

Alınan Burs ve Ödüller (Varsa)

Yıl	Burs/Ödül
2015-2019	Bakü Devlet Üniversitesi Eğitim Bursu