



T.C.
UFUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

**AZOSPERMİK OLGULARDA MEDİKAL TEDAVİNİN HORMON
PARAMETRELERİ VE SEMENDE MULTICOLOR FISH ANALİZİ İLE TAKİBİ**

GAZEL KIZILIRMAK

Danışman
Doç. Dr. AHMET HAKAN HALİLOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA
2018

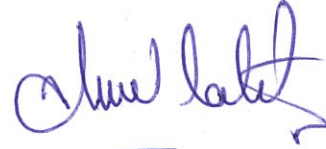
KABUL VE ONAY

Gazel KIZILIRMAK tarafından hazırlanan "Azospermik olgularda medikal tedavinin hormon parametreleri ve semende multicolor FISH analizi ile takibi " başlıklı bu çalışma, 12.02.2018 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından BİTİRME TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Recai PABUÇCU



Danışman: Doç. Dr. Ahmet Hakan HALILOĞLU



Üye: Doç. Dr. Sinan ÖZKAVUKÇU

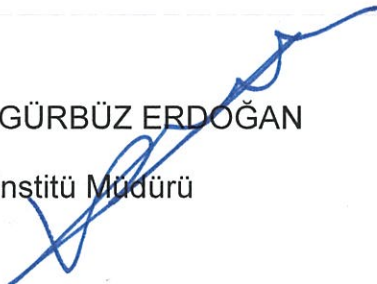


Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. GÜRBÜZ ERDOĞAN

Enstitü Müdürü



BİLDİRİM

Hazırladığım tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kağıt ve elektronik kopyalarının Ufuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullarda saklanmasına izin verdiğimi onaylarım:

1. Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.
2. Tezimin sadece Ufuk Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.
3. Tezimin 3 yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

12.02.2018

Gazel KIZILIRMAK

İTHAF

Her zaman beni destekleyen ve sevgilerini esirgemeyen canım ailem;

Annem Gülay KIZILIRMAK

Babam Cumali KIZILIRMAK

Ablam Nil AKDOĞAN ve eşi Emre AKDOĞAN

Sevgili yeğenim Ali AKDOĞAN'a ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum ve yüksek lisans eğitimim için katkılarından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Recai PABUÇCU'ya,

Yüksek lisans eğitimim ve çalışma hayatım boyunca bilgisini ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Ahmet Hakan HALİLOĞLU'na,

Tezime katkı ve desteklerinden dolayı değerli hocam Prof. Dr. Volkan BALTACI'ya,

Eğitim hayatım boyunca maddi, manevi her konuda bana yardımcı olan, yol gösteren, inanan, sevgi ve desteklerini her daim hissettiğim annem Gülay KIZILIRMAK, babam Cumali KIZILIRMAK, ablam Nil AKDOĞAN ve eniştem Emre AKDOĞAN'a,

Doğduğu andan itibaren hayatımın merkezine giren, huzur ve mutluluk kaynağım çok sevdiğim canım yeğenim Ali AKDOĞAN'a,

Bana ikinci bir abla olan, meslek hayatım boyunca beni destekleyen ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Ayça IŞIK'a,

Bu süreçte bana göstermiş oldukları destek, anlayış ve sevgilerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
BİLDİRİM	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İNFERTİLİTE	4
2.2. ERKEK ÜREME SİSTEMİ.....	4
2.2.1. Testis	4
2.2.1.1. İnterstisyel Leydig Hücresi	6
2.2.1.2. Seminifer Tübüller	7
2.2.1.3. Sertoli Hücreleri	7
2.3. SPERMATOGENEZ.....	8
2.3.1. Tip A Koyu Spermatogonyumlar	9
2.3.2. Tip A Açık Spermatogonyumlar	9
2.3.3. Tip B Spermatogonyumlar	9
2.4. SPERMİYOGENEZ	10
2.4.1. Spermin Yapısı	12
2.5. ERKEK İNFERTİLİTESİNİN NEDENLERİ.....	14
2.5.1. Tıbbi Özgeçmiş	14
2.5.2. Fizik Muayene	14
2.5.3. Temel Semen Analizi	15
2.5.4. Endokrinolojik Değerlendirme.....	16

2.5.5. Genetik Değerlendirme.....	17
2.6. ERKEK GENİTAL KANALIN HORMONAL KONTROLÜ	18
2.7. AZOOSPERMİ	20
2.7.1. Azoosperminin Nedenleri	20
2.8. TESTİKÜLER BİYOPSİ	22
2.9. AZOOSPERMİDE CERRAHİ SPERM ELDE ETME TEKNİKLERİ	23
2.9.1. Mikro Epididimal Sperm Aspirasyon (MESA).....	23
2.9.2. Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA).....	24
2.9.3. Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)	24
2.9.4. Mikro Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (mikro TESE).....	24
2.10. ERKEK İNFERTİLİTESİNDE GENETİK FAKTÖRLER	25
2.10.1. Kromozomal Anomaliler	25
2.10.2. Y Kromozomu ve Erkek İnfertilitesi	26
2.11. İNFERTİL ERKEKTE SPERM FISH TESTİ	27
3. MATERYAL METOD	30
3.1. MATERYAL	30
3.1.1. Kullanılan Gereçler.....	30
3.2. METOD.....	31
3.2.1. Materyal Seçimi	31
3.2.2. Multicolor FISH Analiz Protokolünün Hazırlanışı.....	31
3.2.3. Sonuçların Analizi ve Değerlendirilmesi	35
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
7. KAYNAKÇA	46
ÖZGEÇMİŞ	52

TABLolar LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 1: Normal sperm parametreleri (WHO, 2010)	15
Tablo 2: Semen değişkenlerinin terminolojisi	16
Tablo 3: Serum hormonları ile erkekte klinik bulgular arasındaki ilişki	17
Tablo 4: FSH değişkenlerinin dokümantasyonu	37
Tablo 5: LH değişkenlerinin dokümantasyonu	37
Tablo 6: Prolaktin değişkenlerinin dokümantasyonu	38
Tablo 7: Total Testosteron değişkenlerinin dokümantasyonu	39
Tablo 8: İki grubun karşılaştırılan değişkenlerinin dokümantasyonu	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1: Testisin yapısı	6
Şekil 2: Spermatogenez	10
Şekil 3: Spermiyogenezin şematik gösterilmesi	12
Şekil 4: Sperm hücresi	13
Şekil 5: Hormonların erkek üreme sistemi üzerine etkisi	20
Şekil 6: Y kromozomunu oluşturan bölgeler	27



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
AIS	Androjen Duyarsızlığı Sendromu
AMH	Antimüllerian Hormon
AZF	Azoospermik Faktör Bölgesi
CF	Kistik Fibrozis
Cm	Santimetre
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
ER	Endoplazmik Retikulum
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
FISH	Fluorescence In Situ Hibridizasyon
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
IVF	In Vitro Fertilizasyon
ICSI	Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
LH	Luteinleştirici Hormon
MIS	Müllerian inhibe edici madde
MESA	Mikro Epididimal Sperm Aspirasyonu
mL	Mililitre
mU	Mili Ünite
μ m	Mikrometre
NOA	Nonobstrüktif Azoospermia
n	Haploid
2n	Diploid
OA	Obstrüktif Azoospermia
PESA	Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu

PGT	Preimplantasyon Genetik Tanı
RNA	Ribo Nükleik Asit
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
SCOS	Sertoli Cell Only Sendrom
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TESE	Testiküler Sperm Ekstraksiyonu
TESA	Testiküler Sperm Aspirasyonu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
Yp	Y Kromozomunun Kısa Kolu
Yq	Y Kromozomunun Uzun Kolu

ÖZET

Kızılırmak Gazel. Azospermik olgularda medikal tedavinin hormon parametreleri ve semende multicolor FISH analizi ile takibi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2018.

Bu çalışmada, azospermi nedeni ile medikal tedavi uygulanan hastaların takiplerinde kullanılan, semende multicolor FISH analizi ve hormon parametrelerinin korelasyonu amaçlanmıştır.

Çalışmamıza erkek infertilitesi tanısı ile Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Kliniğine başvuran, daha önce mikro TESE yapıp sperm elde edilemeyen ve medikal tedavi uygulanan erkek hastalar dahil edildi. Hastaların hormonal değerlendirmeleri (FSH, LH, Total Testosteron, Prolaktin), uygulanan medikal tedaviler ve FISH analizi sonuçları dokümanite edildi. Hastalara 6 ay boyunca hCG tedavisi uygulandı (haftada 5000 IU sc.). Daha önce benzer medikal tedaviler kullanan hastalar, genetik incelemesinde (karyotip analizi ve mikro Y delesyon testi) patolojik sonuç elde edilen hastalar, infertilite nedeni ile cerrahi müdahale olanlar (inmemiş testis, orkiektomi, retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu vb.), kemoterapi ve radyoterapi öyküsü olanlar, sekonder infertiller, iki ve daha fazla TESE öyküsü olanlar çalışma dışı bırakıldı. 6 aylık medikal tedavinin ardından hormonal inceleme ve FISH incelemesi sonuçlarına göre, haploid hücre tespit edilenler ve edilemeyenler iki grup haline getirilerek karşılaştırıldı.

Çalışmaya dahil edilen hastalar; FISH incelemesinde haploid hücre tespit edilen 15 hasta ve kontrol grubu olarak, haploid hücre tespit edilmeyen 15 hastanın sonuçları karşılaştırıldı. İki grup arasında FSH, LH, Total Testosteron ve Prolaktin değerleri arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, azospermi, multicolor FISH, haploid, hormonlar.

ABSTRACT

Kızılırmak Gazel. Assesment of medical treatment in patients with azoospermia with respect to hormonal parameters and multicolor FISH analysis in semen, Master's Thesis, Ankara, 2018.

The aim of this study is to analyze the presence of any correlation between hormonal parameters and multicolor FISH analysis in semen, which are used in the clinical follow-up of patients with azoospermia.

The infertile male patients who have been given a hCG treatment (5000 IU s.c per week) for 6 months, following microTESE is included in this study. Patients' hormonal status (FSH, LH, total testosterone, prolactin levels), given medical treatment protocols and results of FISH analysis have been documented. Patients with a history of similar medical treatments and/or chemotherapy and/or radiotherapy, a pathological genetic analysis (karyotype analysis and micro Y deletion test) result, any type of surgical intervention (undescended testis, orchiectomy, retroperitoneal lymph node dissection), which also includes TESE more than 2 times, is excluded. In addition, patients with secondary infertility are not included.

According to the hormonal status and results of FISH analysis, patients were compared as ones with haploid cell positive and haploid cell negative groups following 6 months of medical treatment.

Haploid cells on FISH analysis were observed in 15 patients. When we compared the results of this group with those of control group (the cases with negative haploid cells on FISH analysis), we did not observe any statistically significant difference in terms of FSH, LH, total testosterone and prolactin levels.

Key words: infertility, azoospermia, multicolor FISH, haploid, hormones.

1. GİRİŞ

Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %25'i bir yıl içerisinde gebelik elde edememektedir. Bu çiftlerin %15'i tedavi arayışı içerisindeyler. İnfertilite, hem erkeği hem de kadını ilgilendiren bir sorun olmakla beraber, çiftlerin yaklaşık %50'sinde erkek faktörü dikkat çekmektedir. Erkek infertilitesi; konjenital ya da kazanılmış ürogenital bozukluklar, genetik hastalıklar ve immünolojik faktörlerden kaynaklanabilir (1).

İnfertilite nedeniyle kliniğe başvuran hastalardan öncelikle detaylı bir anamnez alınmalıdır. Hikaye, fiziki muayene ve basit laboratuvar testleri bizi tanıya ulaştırmada faydalı olacaktır.

Rutin semen analizi, sperm konsantrasyonunu, hareketliliğini, morfolojisini ve diğer hücrelerin varlığını ölçen, infertil erkeğin değerlendirmesinde kullanılan ilk testlerden biridir. Ayrıca bu testte hacim, sıvılaşma süresi, pH, früktoz varlığı ya da yokluğu dahil olmak üzere değerlendirmeye alınır (2).

Sperm kromozom anöploidisi ve yapısal sapmalar da dahil olmak üzere genetik anomaliler infertilitenin başlıca sebepleri arasındadır. Sperm kromozomunu FISH tekniği ile incelemek mümkündür. Bu teknoloji ile sperm anöploidilerinin değerlendirilmesi kolaylaşmıştır. Sperm FISH, özellikle tüp bebek tedavisi ile başarısızlık yaşamış veya tekrarlayan gebelik kaybı vakalarında ve ciddi erkek faktörü infertilitesi olan çiftlere danışmanlık yapmak için yaygın olarak kullanılan bir tarama aracıdır (3).

FISH tekniği 1990'lı yıllarda, insan spermatozoasındaki anöploidileri tespit etmek için daha hızlı, kolay ve daha az maliyetli bir yöntem olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu teknik, ilgili bölgeleri görselleştirmek için kromozoma spesifik floresan nükleik asit problemleri kullanılarak uygulanır. Böylece aynı numunedan çok sayıda sperm analizine imkan sağlar (4,5).

Sperm FISH testi, bir ejakülatta bulunan kromozomal sapmaların frekanslarını tanımlar ve rutin olarak X, Y, 13, 18 ve 21. kromozomları ölçer. FISH, sitogenetik anomalileri teyit etmek veya daha da belirginleştirmek için karyotipe ek olarak kullanılabilir.

Böylece FISH testi, infertil erkeğin değerlendirilmesi ve tedavisine dahil olmuştur. Temel FISH testi nispeten basittir ve çoğu sitogenetik laboratuvarları tarafından uygulanabilirken, multicolor FISH testi çok tecrübeli ve eğitilmiş teknisyenleri gerektiren daha karmaşık bir testtir.

Sperm FISH testi ile ejakülat, epididimal ve testiküler spermdeki cinsiyet kromozomu ve otozomal anöploidinin oranını belirleyebilir ve kapsamlı bir erkek infertilite tanısında faydalı olabilir. Böylece toplanan bilgiler, üreme danışmanlığında klinik açıdan değerlendirmeyi yönlendirebilir ve preimplantasyon genetik teste (PGT) olan ihtiyacı belirleyebilir (2).

Standart mikroskopik incelemeler sonrasında sperm hücresi olmamasına azoospermi denilmektedir. Sperm yokluğu en az iki inceleme ile ispatlanmalıdır.

Azoospermi, obstrüktif azoospermi (OA) ve nonobstrüktif azoospermi (NOA) olmak üzere iki gruba ayrılır (6).

OA olan hastalarda sperm bulunmaması yalnızca fiziksel bir bariyerdendir kaynaklanmaktadır.

Öte yandan, çoğu NOA vakalarında testiküler hasarın nedeni idiopattir. Bu kişilerde çeşitli mayotik anomaliler gözlemlenmiştir (5).

Ayrıca, NOA hastalarında görülen hipospermatogenez, matürasyon arresti, Sertoli cell only sendromu (SCOC) veya fokal olmayan spermatogenez en yaygın histolojik nedenlerdir.

Testosteron salgılanması, luteinleştirici hormonun (LH) kontrolü altındadır. Testosteron ve follikül uyarıcı hormon (FSH) spermatogenez için gerekli olan hormonlardır. LH, Leydig hücrelerini testosteron salgılanması yönünde uyarır. FSH salgılanması ile seminifer tübüllerin içerisinde spermatogonyumlardan önce primer spermatozoidler, sonra sekonder spermatozoidler, daha sonra spermatidler ve en son olgun spermatozoa meydana gelir (7).

Prolaktin hormonu, hipotalamusun baskılayıcı kontrolü altında salgılanır. Erkek infertilitesinde prolaktin düzeylerinin araştırılması gerekir. Hiperprolaktinemi, erkekte infertilite ile birlikte libido azalmasına ve erektil disfonksiyona yol açabilir. Aynı zamanda, doğrudan gonad üzerine negatif bir etkiyle sperm üretimini etkileyebilir (8).

Biz de bu çalışmamızda, azoospermik olgularda semende multicolor FISH testi uygulayarak, haploid yapıda hücrelerin analizini yaptık. Medikal tedaviyle birlikte, hormon test sonuçlarını takiben, hastalardan alınan semen örneğinde uygulanan multicolor FISH analizinde haploid genoma sahip hücrelerin hormonal değerler açısından bir farkı olup olmadığını araştırdık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İNFERTİLİTE

Korunmasız, düzenli cinsel ilişkiye rağmen bir yıl içerisinde gebelik elde edilememesi infertilite olarak tanımlanır (9).

Çiftlerin yaklaşık olarak %25'i bir yıl içerisinde gebelik elde edememektedir ve bu çiftlerin yaklaşık %15'i medikal bir tedavi arayışı içerisinde dirler.

İnfertilite, hem erkeği hem de kadını ilgilendiren bir durum olmakla beraber çocuk sahibi olamayan infertil çiftlerin %50'sinde erkeğe ait nedenler bulunurken çoğu çiftte ise erkek ve kadına ait faktörler bir aradadır (10).

2.2. ERKEK ÜREME SİSTEMİ

Erkek üreme sistemi; haploid gametin üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanmasından, ayrıca erkek seks hormonu olan androjenlerin sentezi ve sekresyonundan sorumludur (11).

Erkek üreme sistemi; sperm üreten, sentezleyen ve androjenleri salgılayan testisler, dışarıya spermatozoa taşınmasından sorumlu olan genital kanallar (epididimis, vaz deferens, ejakülatör kanal), salgıları semen kitlesini oluşturan ejaküle spermatozoaya besinler sağlayan aksesuar genital bezler (seminal vezikül, prostat bezi, bulboüretal bezler) ve erektil dokudan oluşan penisten oluşur (11,12).

2.2.1. Testis

Testisler, vücut boşluğu dışında yer alan skrotum içerisine yerleşmiş olan bir çift organdır. Testisler, spermatogenezin gerçekleştiği, testosteron başta olmak

üzere erkek cinsiyet hormonlarının üretildiği yerdir (13,12). Spermatogenez için en uygun ısı 34°C-35°C'dir. Bu yüzden testisler, vücut ısısına göre 2°C-3°C daha düşük ısıda olmalıdır (11).

Testosteron, testislerin interstisyel (dokular arası) Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenen steroid yapıda bir hormondur. Testosteron salgılanması LH hormonunun kontrolündedir, yani LH etkisiyle Leydig hücrelerinde testosteron salgılanır (7). Embriyonik gelişim, cinsel olgunlaşma ve üreme fonksiyonları için testosteron sentezi oldukça önemlidir (13).

Spermatogenez için testosteron ve FSH gerekli olan hormonlardır. FSH'nin etkisiyle seminifer tübüllerin içerisinde spermatogonyumlardan önce primer spermatositler, ardından sekonder spermatositler, sonra spermatidler ve arkasından olgun spermatozoa oluşur (7).

Puberte ile birlikte testosteron yapımı da artar. Sertoli hücreleri inhibin hormonu sentezler ve salgılar. Bu hormon, negatif feed-back ile hipotalamustan GnRH ve hipofizden FSH salgılanmasını baskılar. Sertoli hücreleri, rete testis hücreleriyle birlikte, sperm yaşamaya ve epididimise taşınmasında rolü olan testiküler sıvıyı salgılar. Bu sıvı; steroid, protein, iyon ve androjen bağlayıcı protein içerir. Sertoli hücreleri ayrıca sperm hücreleri için mekanik destek sağlar, kan-testis bariyerini oluşturur ve spermlerin beslenmesine yardımcı olur.

Erkek cinsiyet organlarının yapı ve fonksiyonları, testosteronun varlığına bağlıdır. Testislerden yeteri kadar testosteron salgılanmazsa bu organlar küçülür ve işlevleri bozulur.

Testosteronun, iç ve dış cinsel organ gelişimi ve testislerin skrotuma inmesi gibi fetüste etkileri vardır. Erişkinlerde ise, birincil ve ikincil cinsiyet karakterlerin oluşmasını sağlar ve fenotipik maskülen özellikleri belirir. Sekonder seks karakterlerinde puberte ile birlikte bazı değişiklikler gözlenir. Bunlar; pubis, linea alba boyunca, aksilla, yüz, göğüs ve sırt bölgelerinde kıllanma, larinks mukozasında hipertrofi ve genişleme ile ses kalınlaşması, derinin kalınlaşması ve yağlanması, kemik ve iskelet kaslarının yoğunluğunun artması, pelvisin dar ve uzun olması ayrıca ilerleyen yaşlarda kellik görülmesidir (7).

2.2.1.2. Seminifer Tübüller

Sperm hücrelerinin üretildiği yerdir. Her testiste yaklaşık 250-1000 civarında bulunan seminifer tübüller, karmaşık yapıda çok katlı bir epitelle döşelidir. Boyları 30-70 cm ve çapları 150-250 μm 'dir. Bu tübüller, bir testiste yaklaşık 250 metre uzunluğunda bulunur. Seminifer tübüller, testis lobülleri içerisindeki kıvrımlı yapısının ardından uçlara doğru lümeni daralarak kısa düz segmentler halinde rete testis ile bağlantıyı sağlayan tubuli rekti'yi oluşturur. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanır.

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, karmaşık bir germinal veya seminifer epitel ve belirgin bir bazal laminadan oluşur. Tübüllerin arasındaki boşluğun büyük bir kısmını ise interstisyel Leydig hücreleri doldurur.

Sertoli (destek) hücreleri ve spermatogenez serisini oluşturan hücreler olmak üzere seminifer tübülde iki tip hücre bulunur. Spermatogenez serisinin hücrelerinin işlevleri, spermatozoonları üretmektir. Spermatozoa üretimine spermatogenez denilmektedir. Bu süreç, mitoz ve mayoz hücre bölünmelerini içermektedir. Bu süreç sonunda hücreler sperm hücrelerine farklılaşır ve bu aşamaya spermiyogenez adı verilir (15).

2.2.1.3. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri uzun, prizmatik ve bazal laminadan seminifer tübül lümenine uzanan hücrelerdir. Gelişmekte olan spermlerin mayozdan sonra yüzeyine tutundukları destek hücreleridir. İyi gelişmiş bir düz yüzlü endoplazmik retikulum, az sayıda granüllü endoplazmik retikulum ve anüler lamel dizileri içerir. Ayrıca iyi gelişmiş bir golgi kompleksi, çok sayıda mitokondri ve lizozom, lipid damlacıkları, veziküller, glikojen granülleri ve filamentlere sahiptir.

Sertoli hücrelerinin ökromatik nükleusu genellikle oval veya üçgen şekillidir. Şekli ve yerleşimi değişkendir. Bazı türlerde karyozom adı verilen üç parçalı yapıda, DNA ve RNA içeren bir nükleus içerir.

İnsanda, bazal sitoplazmada inklüzyon cisimcikleri (Charcot-Böttcher kristalleri) görülmektedir. Kimyasal fonksiyonları bilinmemektedir. Son yapılan çalışmalar, inklüzyon cisimciklerinin lipid transportunda ve Sertoli hücreleri tarafından lipidlerin kullanımında görevli olabileceğini düşündürmüştür.

Sertoli hücreleri birbirlerine Sertoli hücreleri arası bağlantı kompleksi aracılığıyla bağlanır. Bu özel bağlantı zonula okludens ile karakterizedir. Böylece seminifer tübül lümeni bazal ve adlüminal olmak üzere iki kompartımana ayrılır. Bu sıkı bağlantılar, gelişmekte olan spermatozoayı otoimmün reaksiyondan koruyan kan-testis bariyerinin morfolojik temelini oluşturur (16).

Sertoli hücrelerinin görevleri

Spermatozoa için gerekli besin ve fiziksel desteği sağlar.

Spermatidlerin olgunlaşmasında ortaya çıkan sitoplazmik artıkları fagozite eder.

Spermatozoanın seminifer tübüllerden genital kanallar boyunca taşınmasını kolaylaştıran früktozca zengin bir sıvı sentezler ve salgılar.

Kan-testis bariyerini oluşturur.

FSH'nın etkisi altında androjen bağlayıcı protein (ABP) ve FSH'nın sentezini ve salınımını durduran bir hormon olan inhibini salgılar.

Testiküler transferrin üretimi ve salgılanmasıyla demir alınımasını sağlar.

Antimüllerian hormon (AMH) sentez ve sekresyonu ile fetal gelişim döneminde erkek özelliklerin belirmesini sağlar (12,17).

2.3. SPERMATOGENEZ

Spermatogonyumdan sperm üretim sürecine spermatogenez denir. Spermatogonyum hücreleri cinsel olgunluk çağında mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar. Böylece yeni hücreler oluşur. Yeni oluşan hücreler, A tipi

spermatogonyumlar ve B tipi spermatogonyumlar olmak üzere iki yoldan birini izleyebilir (15).

İnsan spermatogonyumları, nukleusların görünümüne göre 3 tip olarak sınıflandırılmıştır.

2.3.1. Tip A Koyu Spermatogonyumlar

Seminifer epitelin kök hücreleri olduğu düşünülmektedir. Düzensiz aralıklarla bölünerek kök hücre olarak kalan bir çift tip A koyu spermatogonyum veya bir çift A açık spermatogonyum oluşturur.

2.3.2. Tip A Açık Spermatogonyumlar

Sperm hücrelerini üreten farklılaşma süreciyle ilgilidirler. Arka arkaya birkaç mitotik bölünme geçirip sayılarını artırırılar.

2.3.3. Tip B Spermatogonyumlar

Birkaç bölünmeden sonra, tip A spermatogonyumlar farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşır (16).

Primer spermatositler 46 kromozom ve $2n$ DNA içerir. Bu hücreler oluşumlarından hemen sonra birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Birinci mayoz bölünmenin arkasından sekonder spermatositler oluşur. Bunlar 23 kromozom içeren daha küçük hücrelerdir. Kromozom sayısındaki azalmayla beraber DNA miktarı da $2n$ 'den n 'e iner. Bu hücreler hızlıca ikinci mayoz girerler. Sekonder spermatositlerin bölünmesiyle 23 kromozom içeren iki hücre yani spermatidler oluşur. Birinci ve ikinci mayoz arasında S fazı (DNA sentezi) görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı da yarıya iner böylece dört adet haploid (n) hücre meydana gelir (15).

2) Kep Fazı

Akrozomal vezikül genişler ve büyür. Çekirdekle temas ettiği yerden başlayarak, çekirdeğin ön kısmını bir şapka gibi yarıya kadar sarar. Akrozomal vezikül hidrolitik enzimleri son büyüklüğüne ulaşır ve akrozom adını alır.

3) Akrozom Fazı

Akrozom, özel bir tip lizozom olarak kabul edilir. İçerisinde hyalüronidaz, akrozin, nöraminidaz, asit fosfataz ve tripsin benzeri proteazlar gibi hidrolitik enzimler bulunur. Oosit plazma membranı ile sperm dış akrozomal membranının birleşmesi sonucu hidrolitik veziküller eksositoz ile dış ortama salınır. Hyalüronidaz enzimi, spermin korona radiata tabakasını geçmesine yol açarken, akrozin ve tripsin benzeri proteazlar ise zona pellusidayı eritir. Böylece akrozom reaksiyonu olarak bilinen fertilizasyonun ilk basamağının gerçekleşmesini sağlarlar. Çekirdeğin distalindeki sentriolden çıkan mikrotübüller, flagellumu oluşturacak olan aksonemi meydana getirir. Mitokondrilerin, flagellum proksimal parçasını sarmasıyla, spermin motilitesini sağlayacak olan sperm orta parçası meydana gelir.

4) Matürasyon (Olgunlaşma) Fazı

Spermatidlerin arasındaki protoplazmik köprülerin ortadan kalkmasıyla oluşan "artık cisimcik" adı verilen fazla sitoplazmik kısımlar vardır. Bu bölgeler Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilirler. Spermatidde oluşacak bir takım değişiklikler sonucu; seminifer tübül lümenine atılan ancak henüz hareket ve dölleme yetenekleri olmayan, olgun sperm hücresi gelişir (19).

2.5. ERKEK İNFERTİLİTESİNİN NEDENLERİ

Sayısal ve yapısal kromozomal anomaliler, Y kromozomu mikrolelesyonları, kistik fibrozis (CFTR genindeki mutasyonlara bağlı gelişen otozomal resesif bir hastalık), vaz deferenslerin bilateral yokluğu, gonadotropin eksikliği, varikosel, testis tümörleri, ilaçlar, sperm otoimmünitesi, sigara içme ve toksinlere maruz kalma gibi etkenler infertiliteye neden olan etmenlerdir (24).

Erkek infertilitesini değerlendirirken hasta hikayesinin yanı sıra; semen analizi, fiziki muayene, hormonal ve genetik testler uygulanması önemlidir. Sorunun saptanmasında en önemli aşamalardan biri de iyi bir aile öyküsü alınmasıdır (25).

2.5.1. Tıbbi Özgeçmiş

Geçirilmiş bazı ateşli hastalıklar, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar, cerrahi girişimler ve travmalar infertiliteye yol açabilir ya da fertilitiyi etkileyebilir (26).

Ayrıca alkol, radyoterapi, anabolik steroid, sitotoksik kemoterapi, hiperprolaktinemi yapan ilaçlar, toksik kimyasallara maruziyet yine anamnezde sorgulanması gerekenler arasındadır.

Kendisinin ve eşinin önceki fertilitite öyküsü alınmalıdır.

Diğer yandan okul başarısı ve mental performansın sorgulanması, Klinefelter olgularında X kromozomunun sayısal artışlarında önem kazanır (27).

2.5.2. Fizik Muayene

Genital organların muayenesini içermelidir. Testis kıvamı ve volümü, vaz deferens ve epididimis değerlendirmesi ve varikosel için fizik muayene dikkatli bir şekilde incelenmelidir.

Ayrıca sekonder seks karakterlerinin değerlendirilmesi (kılınma, jinekomasti gibi) oldukça önemlidir (28).

2.5.3. Temel Semen Analizi

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ilk ve temel test semen analizidir. Semen, 2-5 günlük cinsel perhiz sonrası toplanır. Semen toplandıktan bir saat içinde değerlendirme yapılmalıdır. Standart semen analizinde dikkat edilmesi gereken noktalar; sıvılaşma süresi, viskozite, renk, hacim, PH, konsantrasyon, motilite, morfoloji, agglütinasyon, yuvarlak hücre sayısı ve immatür germ hücre sayısıdır (27,29).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO, 2010) göre semen analizi değerleri (30)

Tablo 1: Normal sperm parametreleri

Değişken	Normal parametre
Semen volümü (ml)	≥1.5
Total sperm sayısı	≥39 (milyon)
Sperm konsantrasyonu	≥15 (milyon/ml)
Total motilite	≥40 (%)
Progressive motilite	≥32 (%)
Vitalite	≥58 (canlı sperm, %)
Sperm morfolojisi	≥4 (normal formlar, %)
pH	>7.2
Peroksidaz-pozitif lökosit	< 1.0 (milyon/ml)
MAR testi	< 50 (%)
Immunobead testi	< 50 (%)
Seminal çinko	>2.4 (µmol/ejekülat)
Seminal früktoz	>13 (µmol/ejekülat)
Seminal nötral glukozidaz	>20 (mU/ejekülat)

Tablo 2: Semen değişkenlerinin terminolojisi (30)

Terim	Anlamı
Normozoospermi	Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülat.
Oligozoospermi	Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu.
Astenoospermi	Referans değerden düşük sperm hareketi.
Teratoospermi	Referans değerden düşük sperm morfolojisi.
Oligoastenoteratoospermi	Her üç değişkenin de referans değerlerinin altında olması.
Azoospermi	Ejakülatta hiç spermatozoa bulunmaması.
Aspermi	Hiç ejakülat elde edilememesi.

2.5.4. Endokrinolojik Değerlendirme

Hormonal değerlendirme için temel testler; serum FSH, testosteron ve östradiol'dür. Düşük testosteron varlığında, total ve serbest testosteron ölçümlerinin tekrarı ile aynı zamanda LH ve prolaktine de bakılmalıdır. Aşırı yükselmiş FSH, spermatogenez bozukluğuna işaret etmekle beraber bu erkeklerin çoğunda serum FSH'sı normal bulunmaktadır. Testosteron, FSH, LH ve prolaktin arasındaki ilişki klinik durum hakkında bilgi verir (31).

İnfertilite sebebi endokrin olarak belirlenen hastalar, hipogonadizm tablosuyla başvurur. Tanı, normal ya da düşük FSH, düşük testosteron ve yüksek prolaktin düzeyleriyle konur. Esas sebebi saptamak için ek araştırmalar yapmak gerekir. Bu hastalar ejakülatuar ya da seksüel disfonksiyon gösterebilir. Bu durumdaki hastalar; düşük testosteron, yüksek olmayan FSH ya da yüksek prolaktin şeklinde sınıflandırılabilir (9).

Tablo 3: Serum hormonları ile erkekte klinik bulgular arasındaki ilişki (31)

Klinik Durum	FSH	LH	Testosteron	Prolaktin
Normal Spermatogenez	Normal	Normal	Normal	Normal
Hipogonadotropik hipogonadizm	Düşük	Düşük	Düşük	Normal
Spermatogenez bozukluğu	Yüksek/Normal	Normal	Normal	Normal
Total testiküler yetmezlik / hipergonadotropik hipogonadizm	Yüksek	Yüksek	Normal/Düşük	Normal
Prolaktin salgılayan hipofiz tümörü	Normal/Düşük	Normal/Düşük	Düşük	Yüksek

2.5.5. Genetik Değerlendirme

Erkek infertilitesine yol açan nedenlerden bir kısmı sonradan oluşabileceği gibi bir kısmı da genetik kökenlidir. Özellikle şiddetli oligozoospermik ve azoospermik vakaların etyolojilerinde genetik bozukluklar (cinsiyet ve otozomal kromozomlarda meydana gelen sayısal ve yapısal bozukluklar) önemli bir yer tutar.

Azoospermi ve şiddetli oligozoospermi ile görülen genetik bozuklukların sperm yapımını ve spermin taşınmasını engellemesi infertiliteye neden olabilir. Erkek infertilitesi ile ilgili dört genetik faktör bilinmektedir:

1. İzole spermatogenez defekti yapabilen Y kromozom mikrodelsiyonları.
2. Konjenital vaz deferens yokluğu ile bağlantılı kistik fibrozis gen mutasyonları.
3. Testiküler fonksiyonlarda bozulmaya yol açan kromozom anomalileri.
4. Sperm fonksiyonlarını direkt etkileyen genetik sendromlar (32).

2.6. ERKEK GENİTAL KANALIN HORMONAL KONTROLÜ

Sertoli ve Leydig hücrelerinin fonksiyonunu düzenleyen hormonlar FSH ve LH'dır. FSH, Sertoli hücrelerinden inhibin ve aktivin üretimini başlatırken; inhibin, hipotalamus, hipofizyal FSH salınımı üzerine negatif feed-back etkisi yapar. Aktivin ise ters bir etkiye sahiptir.

Hipofizin deneysel çıkarılması (hipofizektomi) ardından spermatogenezin duraklaması göstermiştir ki, FSH ve LH spermatogenez üzerinde vazgeçilmez bir etkiye sahiptir.

Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen ABP, FSH tarafından uyarılır. ABP, androjenleri (testosteron ya da dihidrotestosteron) bağlar. Gelişen spermatogenetik hücrelerin çevresinde ABP-androjen kompleksi gelişir. Böylece ABP, yüksek androjen seviyelerini sağlamış olur. Bu kompleks, epididimise taşınır.

Sertoli hücreleri testiste üç ana salgısal protein üretir. Bunlar; inhibin, aktivin ve ABP'dir. Fetal Sertoli hücreleri de Müllerian inhibe edici madde (MIS) sentezler ve salgılar.

LH, Leydig hücrelerinde testosteron sentezini uyarır. Testosteron ve 5 α -redüktaz ile testosteronun indirgenme metaboliti olan dihidrotestosteron, aynı androjen reseptörüne tutunur.

Androjen reseptörü steroid-tiroid-retinoik asit reseptörlerinin üyesidir. Üç birimden oluşur:

- 1) DNA bağlayıcı birim (androjen-yanıtı veren elemanı tanır).
- 2) Transkripsiyon faktörleri bağlayıcı birim.
- 3) Androjen bağlayıcı birim.

Androjen reseptöründe, X kromozomundaki bir gen tarafından kodlanan bozukluk, androjen duyarsızlığı sendromunun (AIS, testiküler feminizasyon olarak da bilinir) sebebidir. Bu kişilerdeki semptomların şiddeti, androjen reseptörünün kısmen veya tamamen androjenleri bağlama yetersizliğine bağlı olarak değişir.

LH'nın salınımına, testosteron negatif feed back etkisi gösterir. Dolaşım kanında bulunan aşırı testosteron, anterior hipofizden LH salınımını engeller. Testosteron seminal veziküllerin fonksiyonunu uyarır. Dihidrotestosteron ise prostat bezi üzerine etki eder.

LH; prolaktin, Leydig hücre fonksiyonunu düzenlerken, prolaktin, LH reseptörünün gen ekspresyonunu düzenler. LH'nın en önemli görevi testosteron üretiminden sorumlu olmasıdır. Hiperprolaktinemi, gonadotropin salınımını ve testisteki etkisini azaltır. Böylece erkek üreme fonksiyonunu baskılar. Aşırı prolaktin, Leydig hücrelerinden androjenlerin üretimini ve spermatogenezini azaltabilir. Ayrıca erektil disfonksiyon ve infertiliteye yol açabilir (33).

sorun pretestiküler, hipotalamus ve hipofiz aksı normal fakat testislerden kaynaklanan sorun testiküler, ejakülatuar disfonksiyon ya da rete testis ile ejakülatör kanal arasında bir tıkanma kaynaklı sperm iletiminden kaynaklanan sorun ise posttestiküler sebepler olarak tanımlanır. Bu sınıflama sayesinde hastanın, OA ya da NOA olduğu konusunda bilgi sahibi olup, tedavi bu şekilde planlanabilir (37,38).

a. Pre-testiküler Azoospermi

Bu hastalarda sebep, sperm üretimi için yeterli miktarda hormon salınımının olmamasıdır. Bu hastalar, gonadotropinlerin kullanımı ile medikal yolla tedavi edilebilir.

b. Testiküler Azoospermi

Bu hastalarda sperm üretimi hiç olmayabilir ya da ejakülatta görülebilecek kadar yeterli sperm üretimi yapılamamaktadır. NOA grubunda testisler normal veya küçük ve FSH seviyesi normalin üzerindedir. Hipergonadotropik hipogonadizm ile de karakterizedir. NOA' da gonadotropin, normal seviyelerde olabilir. Bu yüzden testis yetmezliğinin ayırıcı teşhisi için altın standart testis biyopsisidir. Biyopsi sonucuna göre; hipospermatogenez, matürasyon arresti, germ hücre aplazisi, Leydig hücre hipertrofisi veya tübüler hyalinizasyon yetmezliği kanıtlanmış olur (39).

Ayrıca NOA'nın sebepleri arasında; anorşi, edinsel testiste travma, testis torsiyonu, inmemiş testis, Klinefelter sendromu, orşit, radyasyon, ısı ve gonatoksik ajanlar gibi eksojen faktörler, karaciğer sirozu ve böbrek yetmezliği gibi sistemik hastalıklar, testis tümörleri, varikosel, cerrahi girişimler ve idiopatik sebepler yer alır (40).

c. Post-testiküler Azoospermi

Bu hastalarda normal testiküler spermatogenez olmasına rağmen, sperm atımını sağlayan kanallarda tıkanıklık vardır. Bu sebeple, ejakülatta hiç sperm hücresi bulunmaz. Bu bozukluk konjenital olabilir. Bilateral vas deferens yokluğu, idiopatik epididimal obstrüksiyon, orşiepididimit, vazektomi sonrası veya vazektomi düzeltme operasyonunda başarısızlık, vas deferens veya epididim hasarlarına neden olabilecek diğer nedenler arasındadır.

Konjenital reproduktif kanal yokluğu erkeklerde kistik fibrozis (CF) gen mutasyonu taşıma olasılığı yüksek olduğundan, bu çiftlerde kadınlarda da kistik fibrozis gen mutasyonu analizi önerilmelidir.

Bu gruptaki hastalar normal testis boyutları ile birlikte normal gonadotropin seviyeleri ile karakterize olan OA'lı olarak sınıflandırıldıkları için retrograd ejakülasyon da göz ardı edilmemelidir (39).

2.8. TESTİKÜLER BİYOPSİ

Testis biyopsisi, OA ve NOA'yı ayırt edecek belirgin faktörleri (normal FSH ve normal testis volümü) bulunmayan hastalarda uygulanan bir yöntemdir. NOA klinik bulguları bulunan ve ICSI uygulamasına karar veren hastalarda tedavi sürecinin bir parçası olarak testis biyopsisi uygulanabilir. Spermatogenez fokal olabileceği için bu olgularda bir ya da daha fazla seminifer tübülde sperm hücresi bulunurken diğerlerinde bulunmaz. NOA bulunan erkeklerin yaklaşık %50-60'ında sperm hücresi içeren seminifer tübüller bulunur. Bu hücreler ICSI için kullanılabilir.

Bu yöntem açık biyopsi, perkütan testiküler biyopsi ve testiküler ince iğne aspirasyonu olarak üç şekilde uygulanabilir (41,42).

Testis biyopsisi sonucuna göre değerlendirme şekilleri şöyledir:

a. Normal Spermatogenez

Yapılan biyopsi incelemesine göre, seminifer tübüllerde spermatogeneze ait bütün germ hücreleri görülür. Bu tip hastaların ejakülatlarında sperm hücresine rastlanamaması sperm kanallarında bir tıkanıklık olduğunu düşündürür.

b. Matürasyon Arresti

Tüm seminifer tübüllerde germ hücre arrestine bağlı spermatogenezin inkomplet oluşudur. Spermatid, spermatozoid ve spermatogonyal evredeki hücreler ayrı ayrı gözlenebilir. Azoospermi ile sonuçlanır.

c. Sertoli Cell Only Sendromu (SCOC)

Tübülüslerde sadece Sertoli hücreleri bulunur. Ancak yardımla üreme olanaksız değildir. Çünkü bazı izole tübüllerde spermatogenez bulunma ihtimali vardır. Bu olgularda yüksek plazma FSH ve düşük inhibin B düzeyi mevcuttur (9).

d. Hipospermatogenezis

Matür sperm de dahil olmak üzere spermatogeneze ait bütün evreleri içerir. Fakat normospermik olgulara göre germ hücrelerinde azalma söz konusudur (43).

2.9. AZOOSPERMİDE CERRAHİ SPERM ELDE ETME TEKNİKLERİ

2.9.1. Mikro Epididimal Sperm Aspirasyon (MESA)

Spermatogenezin normal olduğu, fakat bilateral vas deferens yokluğu ve diğer düzeltilmemiş obstrüktif olgularda MESA tercih edilen bir tekniktir. Cerrahi süresi testiküler sperm aspirasyonundan (TESA) daha uzun sürer. Ameliyat mikroskobu kullanılarak, açık cerrahi uygulanır. İyileşme süreci TESA'ya göre

daha uzun sürer. NOA'da sonuç alınmadığı için tercih edilmez. Efferent kanallarda motil spermelerin çokça bulunduğu gösterilmiştir. Bu amaçla bolca sperm edileceği için hem tedavi hem de spermeleri dondurma amacıyla uygulanır. Bu avantajı ile TESA'dan daha tercih edilir bir uygulamadır. Aynı seansta tıkanıklığı gideren uygulamalar da yapılabilir.

2.9.2. Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA)

Epididimden kapalı cerrahi yoluyla sperm aspire edilmesi işlemidir. NOA'da kullanılan bir yöntem değildir. Obstrüktif olgularda iğne ile körlemesine girilmesi sonucu kanama hematoma riski yüksek olduğu için PESA işlemi uygulanırken aynı seansta tıkanıklığa müdahale edilemez. Dolayısıyla TESA daha tercih edilir bir yöntemdir. Gebelik oranlarına bakılınca açık cerrahiye göre daha düşüktür.

2.9.3. Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)

Testisten kapalı cerrahi yolla sperm aspire edilmesi işlemidir. Sperm bulma şansı yüksek olan hastalarda tercih edilir. NOA'da tercih edilebilir. Fakat obstrüktif olgularda gebelik oranları daha fazladır. En sık komplikasyonları; hematoma, testis ve epididim yaralanmalarıdır.

2.9.4. Mikro Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (mikro TESE)

NOA olgularında testisten sperm elde edilmesinde ilk tercih edilecek cerrahi yöntemdir. Mikroskop altında normal seminifer tübüller bulunarak seçilir. Böylece hastadan sperm bulma şansı artmış olur. Açık cerrahi uygulandığı için işlem uzun sürer. Bu yüzden genel anestezi gerekebilir. Bol miktarda sperm eldesi mümkün olduğundan dondurmak için de uygun olabilir. Diğer önemli özelliği ise dokuların histopatolojik inceleme şansının olmasıdır. Spermatogenezi gösteren tübüller sadece Sertoli hücresi içeren tübüllere göre daha geniş görülür. Bu farklılık ameliyat mikroskobu ile kolayca saptanır (44).

2.10. ERKEK İNFERTİLİTESİNDE GENETİK FAKTÖRLER

Erkek infertilitesinde genetik faktörler % 15-30 oranında sorumludur. PGT uygulaması ile etiyolojik faktörlerin saptanması, olgularda izlenecek yolun belirlenmesi ve genetik anomalilerin sonraki kuşaklara aktarılmasını önlemek amacıyla önemlidir. Böylece, tedavinin yönlendirilmesi ve bazı olgularda tedaviden vazgeçilmesi gibi kararların alınması açısından yol gösterici olacaktır.

2.10.1. Kromozomal Anomaliler

İnfertil erkeklerde kromozomal anomali oranı yaklaşık %5'tir. Azoospermik olgularda ise bu oran %15 kadardır. En sık gözlenen kromozomal düzensizlikler ise kromozom sayı anomalileridir. NOA olgularında da sayısal anomaliler cinsiyet kromozomlarıyla alakalıdır. Klinefelter sendromlu olgularda olduğu gibi, bu olgularda üretilen spermilerin anormal kromozom içerikleri, sonraki kuşaklara aktarılabilmektedir. Kromozomal anomaliler, oligozoospermilerde %5, şiddetli oligozoospermi ve azoospermilerde ise %10 oranında gözlenmektedir. 46 XY ve 47 XXY gibi mozaik yapıya sahip olgularda %74 oranında ejakülat spermi ve testiküler sperm bulma olasılığı bildirilmiştir. Diğer taraftan non-mozaik olgularda ise %25 oranında sperm bulunabildiğini bildiren çalışmalar vardır. Bu olgularda ICSI'de seçilen spermelerde anöploidi riski olabileceği ve bu sebeple PGT endikasyonu bulunduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Bununla birlikte farklı grupların yaptıkları çalışmalarda bu olgularda üretilen spermilerin öploid germ hücrelerinden geliştiği ve normal kromozomal yapıya sahip olduğu ve böylece normal sağlıklı doğumlar elde edilebildiği ileri sürülmüştür. Erkek infertilitesine neden olan diğer faktör kromozomal translokasyonlardır. Otozomal translokasyonlar normal popülasyona göre infertil erkeklerde 4-10 kat fazla görülmektedir. Robertsonian tipi translokasyonlar; 13, 14, 15, 21 ve 22. kromozomların çok küçük olan kısa kollarının birleşmesiyle oluşur ve infertil erkeklerde %0,8 oranında gözlenir. Bu oran normal popülasyona göre 9 kat fazladır. Robertsonian tipi translokasyonlar, oligozoospermik olgularda %0,09, azoospermik olgularda da %1,6 oranındadır. Bu bireyler fertil ya da infertil

olabilirler. Ancak hem fertil olgularda, hem de ICSI uygulanan infertil olgularda fetal anöploidi açısından risk altında olabileceği için prenatal veya PGT için dikkate alınmalıdır (45).

2.10.2. Y Kromozomu ve Erkek İnfertilitesi

Tiepolo ve Zuffardi (1976), yapmış oldukları bir çalışmada azospermik erkeklerin altısında Y kromozomunun uzun kolunda bir kayıp olduğunu fark etmiştir. Bunun üzerine Y kromozomunun uzun kolunda spermatogenez için gerekli olan bazı gen lokuslarının olduğunu ileri sürmüşleridir. Bu çalışmadan sonra yapılan araştırmalarda Y kromozomu mikrolelesyonlarının tespiti için moleküler analiz yöntemleri uygulanmaya başlanmıştır. PCR tekniğiyle birlikte Y kromozomu üzerindeki genleri gösteren bir haritalama sistemi ortaya çıkmıştır. Çoğu çalışma, azospermik veya şiddetli oligozoospermik erkeklerin % 4-14'ünün bir Y kromozomu mikrolelesyonuna sahip olduğunu ve bunun erkek infertilitesine büyük katkıda bulunduğunu göstermiştir (46).

AZF bölgesi, azospermik faktör bölgesi olarak tanımlanır. Bu bölge, spermatogenezle doğrudan bağlantılıdır. Üç tip AZF bölgesi tanımlanmıştır. AZFa ve AZFb komplet tip bölgelerindeki delesyonlarda sperm bulma ihtimali olmamakla beraber AZFc bölgesine ait delesyonlarda % 50 ihtimalle sperm bulma şansı vardır. İdiopatik azospermik vakalarda %15-20, idiopatik oligozoospermik vakalarda ise %7-10 oranında Y kromozomu mikrolelesyonları görülmektedir. Bundan dolayı NOA ya da şiddetli oligozoospermik vakaların tamamına ICSI yapılmadan önce Y kromozom mikrolelesyon testi yapılmalıdır. Bu hastaların tüm erkek çocukları da infertil olacağından çiftler bu durumu bilerek işleme başlamalıdır (47).

spermlerin varlığı, spermin normal haploid kromozomal yapıya sahip olduğunu göstermeyebilir (50).

FISH analizi, florokromlarla işaretlenmiş kromozom spesifik DNA problemlerinin, hedef kromozomlar üzerindeki tamamlayıcı DNA dizilerine hibridizasyonu ve bunu takiben floresan mikroskop altında bağlanmış olan problemlerin saptanmasını içerir (49).

FISH teknikleriyle erkek germ hücrelerinin analizi önemli ölçüde artmaktadır. Böylece, infertil erkeklerin değerlendirilmesine FISH analizi de dahil edilmiştir. Testiküler doku üzerinde veya semende FISH tekniğinin kullanılması ile tüm spermatogenetik sürecin ayrıntılı bir sitogenetik analizi yapılmaktadır. Böylece tüm mayotik sürecin ve mayotik anomalilerin sonuçlarının daha iyi anlaşılabilmesine imkan vermektedir (51).

Geleneksel FISH analizinde en fazla iki renk algılama (kırmızı floresan bir florokrom ve yeşil floresan bir florokrom) kullanılırdı. Floresan görüntülemedeki gelişmeler ve daha kalıcı florokromların (boyaların) geliştirilmesi, araştırmacıların bir deneyde birçok farklı DNA probu kullanmalarını sağlamıştır. Bu, lokusa spesifik problemlerin ve kromozom boyalarının hepsini veya kombinasyonunu içerebilir. Araştırmacılar için en önemli getiri, aynı numuneden hazırlanan birden çok numune üzerinde ayrı deneyler gerçekleştirilebilmesidir. Multicolor FISH analizleri için genel terim M-FISH'tir (52).

M-FISH, sperm anöploidilerinin doğru bir şekilde değerlendirilmesine olanak sağlamakla beraber cinsiyet kromozomları ve otozomal kromozomların (1, 3, 18 ve 21. kromozomlar) incelenmesini de sağlar. Şiddetli oligozoospermik ve azoospermik hastaların testiküler ya da semen örneklerinde birkaç bin hücrenin yanı sıra çok daha az sayıda hücrenin analizine de imkan sağlamaktadır (53).

Birçok infertil erkekte anormal karyotipe bağlı olarak yetersiz sperm üretimi söz konusudur. Sayısal ya da yapısal gonozomal anomaliler (XXY ve Y düzenlemeleri) ve yapısal otozomal anomaliler (resiprokal ve robertsonian translokasyonlar) azoospermik ve oligozoospermik erkeklerde sıkça karşılaşırlar.

Kromozom analizi ile translokasyon taşıyıcılıkları tespit edilebilmekle beraber, Y kromozomunun uzun kol mikrodelsyonları çeşitli moleküler genetik testler ile belirlenmektedir. Özellikle normal karyotipte fakat anormal sperm sayısına sahip olgularda anöploidi ve/veya diploidi oranında artış dikkat çekmektedir. Bu artış özellikle seks kromozomlarında dizomi eğilimi olarak görülmektedir. Özellikle 40 yaş üstü şiddetli oligozoospermik vakalarda bu durum daha sık göze çarpmaktadır. 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarından kaynaklanan dizomi sıklığının sperm sayısı ve motilitesi ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (54).

Azoospermik erkeklerde ise bazı otozom ve X/Y kromozom dizomilerinin çok daha yüksek oranlarda saptandığı bilinmektedir (55).

Sperm FISH analizi ile mayotik bir kusur belirlenmişse bu bilgi çifte, doğrudan üreme sağlığı, klinik tablo ve çiftin belki de PGT seçmesine yardımcı olacaktır. Sperm FISH testi sonucunda anomaliler olan çiftlerin her zaman aile planlamasındaki riskleri, faydaları ve alternatifleri daha iyi anlamak için genetik danışmana yönlendirilmelidir (50).

3. MATERYAL METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kullanılan Gereçler

- Vorteks
- Santrifüj
- Cam şale
- Su banyosu
- Ph metre
- Lam
- Lamel
- Pipetör
- Dijital hassas hotplate
- Floresan ataşmanlı mikroskop
- İnkübatör
- Mikro pipetler
- Uygun FISH probları

3.2. METOD

3.2.1. Materyal Seçimi

Çalışmamızda olgu grubu, Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na infertilite sebebiyle başvuran ve azospermi tanısı alan bireylerden seçilmiştir. 30 adet azospermik erkek bu çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışma öncesi tüm bireyler bu çalışma hakkında bilgilendirilmiş olup onam formları imzalatılmıştır.

Tüm hastaların ayrıntılı öyküsü alınıp, fiziki muayeneleri yapıldıktan sonra, hastalardan alınan kan örneklerinden hormon analizleri biyokimya laboratuvarınca yapılmıştır. FSH, LH, Total Testosteron ve Prolaktin hormonları incelenmiştir. Aynı zamanda, bu hastalardan alınan semen örneği mikroskop altında incelenmiş, sperm hücresi saptanmayan semen örneğine yıkama işlemleri yapılmış olup ardından hazırlanan preparatlara FISH protokolü uygulanmıştır.

Tedaviyi takiben, hormon parametrelerindeki düzelmeler ve semende uygulanan multicolor FISH analizi ile haploid yapıda hücre varlığı araştırılmıştır.

Elde edilen veriler SPSS istatistik programıyla değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel olarak, hormon tedavisinin spermatogenez üzerinde doğrudan etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

3.2.2. Multicolor FISH Analiz Protokolünün Hazırlanışı

Sperm Numunelerinin Hazırlanması

- Hasta tüplerinin üzerine hastanın adı soyadı, tarih, materyal adı yazılır.
- 15 ml'lik hasta tüplerinin içerisine konulan 2,5 ml RPMI 1640 (kültür medyum) üzerine 1 ml örnek eklenir.

- 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir.
- Süpernatant atılarak 5 ml oda ısısındaki 0.075 M KCC pellete eklenir ve vortekslenerek 37 °C'de 10 dakika inkübe edilir.
- Süre bitiminde falkon tüp vortekslenirken 1 ml 20 °C'de soğutulmuş fiksatif damla damla ilave edilir.
- 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edilir.
- Süpernatant atılarak, 5 ml fiksatif pellete eklenerek vortekslenir.
- Santrifüj, aspirasyon, fiksatif ekleme ve tekrar santrifüj işlemi örnek temizlenerek şeffaf hale gelene kadar 3 ila 5 kez tekrar edilir.
- Temizlenmiş numune 0,5 ml fiksatif içerecek şekilde -20 °C'ye kaldırılır.

Numunelerden Hazırlanan Fiksatif Örneğinin Yayma İşlemi

- Yayma işlemi yapılacak ortam nem % 45-50 ve sıcaklığı 19-22 °C olacak şekilde ayarlanır.
- Yayma yapılacak lam üzerine hasta adı soyadı ve çalışılacak test bilgisi yazılır.
- Yayma yapılacak bölge elmas uçlu kalem ile lamın alt yüzeyinden işaretlenir.
- İşaret konulan buzlu lam üzerine hasta fiksatifinden tek damla damlatılır ve kurumaya bırakılır. Bu aşamada lamlar uzun süre bekletilebilir.

Denatürasyon

- Şaleler içindeki denatürasyon solüsyonu oda sıcaklığına getirilir.
- Lamlar 5 dakika denatürasyon solüsyonunda bekletilir.

- Lamlar daha sonra 2 dakika %70 etanol, 2 dakika %90 etanol ve 2 dakika %100 etanol serilerinde bekletilerek dehidrate edilir.

Prob karışımının hazırlanması

- Her hedef bölge için ortam sıcaklığında bir mikro santrifüj tüpüne 7 µl hibridizasyon tamponu, 1 µl prob, 2 µl distile su şeklinde prob miksi hazırlanır.
- Tüp 1-3 saniye santrifüj edilerek vortekslenir ve kullanımından önce tekrar santrifüj edilir.

Hibridizasyon

- Lamlar %100 Etanol solüsyonundan çıkarılır.
- Lamlar dışarıda kurutulur.
- Hedef alanının boyutuna göre prob karışımı uygulanır ve hemen 18x18 mm ebadındaki lamel kapatılır.
- Lamel elastik kapaticılarla (rubber cement) örtülür.
- 73±1 derecedeki ısıtıcıda 5-10 dk bekletilir.
- Lamlar önceden 37 °C'de ısıtılmış kâğıt mendille nemlendirilmiş kutuya yerleştirilir ve kutu 6-16 saat 37 °C'de inkübatörde bekletilir.

Lamin Yıkanması

Hızlı Yıkama

- Hızlı yıkama için bir şaleye 0,4 XSSC/%0,3 NP-40 solüsyonu eklenir ve kullanımdan önce 30 dakika 73 ± 1 °C su banyosunda bekletilir. 1 gün kullanıp atılır.
- Dört lam aynı anda yıkanır dörtten az lam varsa toplam dört olacak şekilde oda sıcaklığındaki boş lamlar eklenir.
- Dördüncü lam batırıldığında süre ölçmeye başlanır. Birinci lamdan lamel çıkarılır ve yıkama solüsyonu içinde 1-3 saniye kadar lamlar sallanır. Diğer lamlarla tekrarlanır.
- Lamlar 2 dakikadan sonra çıkarılır.

Standart Yıkama

- Standart yıkama için bir şaleye 2 XSSC/%0,1 NP-40 başka bir şaleye de 0,4 XSSC solüsyonu eklenir ve ortam sıcaklığında kullanılır. 1 gün kullanıp atılır.
- Lamlar 0,4 XSSC solüsyonuna batırılır. 15-20 saniye kadar bekletilir.
- Lamlar 2 XSSC/%0,1 NP-40 solüsyonuna batırılır. Yıkama solüsyonu içinde 15- 20 saniye kadar bekletilir.

Hibridizasyon Görüntüleme

- Lam karanlıkta havada kurutulur.
- Lamin hedef bölgesine 10 µl DAPI uygulanır ve lamel yerleştirilir.

3.2.3. Sonuçların Analizi ve Değerlendirilmesi

İnterfaz FISH yöntemi ile analiz edilecek preparatlarda DAPI boyasının belirlediği nukleus sınırlarında saptanan spot, dağılmamış, diffüz olmamış, belirgin olan sinyaller değerlendirmeye alınır. Özellikle tek tek düşen ve üzerlerinde herhangi bir kirlilik bulunmayan hücreler değerlendirmeye alınır. DAPI sınırları belli olmayan, parçalanmış nukleus görüntüsü veren sinyallerin sayılamayacak derecede düşük intensitede olduğu hücreler değerlendirmeye alınmamalıdır.



4. BULGULAR

Azoospermi nedeni ile mikro TESE işlemi yapılan ve sperm hücresi elde edilemeyen, daha önce medikal tedavi hikayesi olmayan hastalar değerlendirildi.

6 aylık hCG 5000 IU tedavisi (haftada bir defa sc.) ardından yapılan hormonal değerlendirme ve FISH analizi sonuçlarına göre; FISH incelemesinde haploid hücre tespit edilen 15 hastanın hormonal değerleri (FSH, LH, Total Testosteron, Prolaktin), bu incelemede haploid hücre tespit edilmeyen 15 hasta ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Haploid hücre tespit edilen hastaların yaşları 25-44 aralığında ve median yaş 34 olarak bulundu. Diğer grubumuzda yaş aralığı 29-49 ve median yaş 37 idi ve iki grubun istatistiksel farkı olmadığını gördük ($p=0,32$) (Tablo VIII).

Haploid hücre tespit edilen grupta FSH analiz sonuçları 4,56- 25,28 mIU/mL aralığında, median değeri 9,24 mIU/mL olarak hesaplandı. Bu değerler haploid hücre tespit edilemeyen ikinci grupta 3,12- 11,88 mIU/mL aralığında ve median değeri de 10,87 mIU/mL olarak izlendi ve bu iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p= 0,30$). Bu sonuç ile azoospermi nedeni ile hCG tedavisi uygulanan hastalarda, FSH incelemesinin, haploid hücre çıkması açısından anlamlı bir gösterge olmadığı sonucuna vardık (Tablo IV).

Tablo IV: İki grubun karşılaştırılan FSH değişkenlerinin dokümantasyonu

		YAŞ	FSH
GRUP I	min.	25	4,56
	max.	44	25,8
	med.	34	9,24
GRUP II	min.	29	3,12
	max.	49	11,88
	med.	37	10,87
P değeri		0,32	0,30

Grup I: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilen hastalar.

Grup II: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilemeyen hastalar.

LH incelemelerine bakıldığında haploid hücre tespit edilen grupta değerler 0,08-16 mIU/mL aralığında ve median değeri 5,1 mIU/mL iken, haploid hücre tespit edilemeyen grup için LH değerleri 1,13-23,3 mIU/mL aralığında ve median değeri 9,1 mIU/mL idi. Gruplar arasında haploid hücre tespit edilmesi açısından LH değerlerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü ($p=0,37$) (Tablo V).

Tablo V: İki grubun karşılaştırılan LH değişkenlerinin dokümantasyonu

		YAŞ	LH
GRUP I	min.	25	0,08
	max.	44	16
	med.	34	5,1
GRUP II	min.	29	1,13
	max.	49	23,3
	med.	37	9,1
P değeri		0,32	0,37

Grup I: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilen hastalar.

Grup II: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilemeyen hastalar.

Haploid hücre tespit edilen grupta Prolaktin analiz sonuçları 4- 20,5 ng/mL aralığında, median değeri 8,9 ng/mL olarak hesaplandı. Bu değerler haploid hücre tespit edilemeyen ikinci grupta 4,46-28 ng/mL aralığında ve median değeri de 14 ng/mL olarak izlendi ve bu iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p= 0,10$) (Tablo VI).

Tablo VI: İki grubun karşılaştırılan Prolaktin değişkenlerinin dokümantasyonu

		YAŞ	PROLAKTİN
GRUP I	min.	25	4
	max.	44	20,5
	med.	34	8,9
GRUP II	min.	29	4,46
	max.	49	28
	med.	37	14
P değeri		0,32	0,10

Grup I: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilen hastalar.

Grup II: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilemeyen hastalar.

Total Testosteron incelemelerine bakıldığında haploid hücre tespit edilen grupta değerler 1,37-11,88 ng/mL aralığında ve median değeri 4,33 ng/mL iken, haploid hücre tespit edilemeyen grup için Total Testosteron değerleri 1,83-13 ng/mL aralığında ve median değeri 3,89 ng/mL idi. Gruplar arasında haploid hücre tespit edilmesi açısından Total Testosteron değerlerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı görüldü ($p=0,96$) (Tablo VII).

Tablo VII: İki grubun karşılaştırılan Total Testosteron değişkenlerinin dokümantasyonu

		YAŞ	T.TESTOSTERON
GRUP I	min.	25	1,37
	max.	44	11,88
	med.	34	4,33
GRUP II	min.	29	1,83
	max.	49	13
	med.	37	3,89
P değeri		0,32	0,96

Grup I: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilen hastalar.

Grup II: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilemeyen hastalar.

Veriler SPSS (for Windows, sürüm 14.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak analiz edilmiştir. İki grubun diğer kategorik değişkenler ile karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı.

Bu bulgular ışığında, azoospermik hastaların medikal tedavilerinin takibi sırasında, yapılan FISH incelemelerinde haploid hücre görülmesi için hormonal incelemelerin kesin bir gösterge olmadığı sonucuna vardık. Bu hastaların takibinde hormonal ve FISH incelemelerinin birlikte yapılmasının daha uygun olacağı, bu iki inceleme kaleminin birbirine alternatif olamayacağını değerlendirdik.

Daha yüksek hasta sayıları ve daha uzun takip aralıklarında, çalışmanın tekrarlanmasının, sonuca destek olması açısından önemli olacağını düşünüyoruz.

Tablo VIII: İki grubun karşılaştırılan değişkenlerinin dokümantasyonu

		YAŞ	FSH	LH	PROLAKTİN	T.TESTOSTERON
GRUP I	min.	25	4,56	0,08	4	1,37
	max.	44	25,8	16	20,5	11,88
	med.	34	9,24	5,1	8,9	4,33
GRUP II	min.	29	3,12	1,13	4,46	1,83
	max.	49	11,88	23,3	28	13
	med.	37	10,87	9,1	14	3,89
P değeri		0,32	0,30	0,37	0,10	0,96

Grup I: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilen hastalar.

Grup II: FISH inceleme sonucunda Haploid hücre tespit edilemeyen hastalar.

5. TARTIŞMA

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı'na infertilite nedeniyle başvuran ve azospermi tanısı alan 30 adet olgunun, medikal tedavi sonrası hormon değerleri, semende multicolor FISH analizi sonuçları ve tedavinin spermatogenez üzerindeki etkisi tartışılacaktır.

Erkek üreme hücreleri embriyonik ektodermden köken alırlar. Yenilenme ve farklılaşma özelliği olan hücrelerdir. Spermatogonyumdan spermatozoaya kadar geçen başlıca iki aşama vardır. Diploid yapıdaki spermatogonyumun haploid yapıdaki spermatide ulaştığı aşama (spermatogenez) ve spermatidin morfolojik değişim geçirerek olgunlaştığı aşamadır (spermiyogenez). Spermatogenez sırasında hücre mitoz ve mayoz bölünmeler geçirir. Germ hücreleri, testisteki seminifer tübüllerde, Sertoli hücrelerinin arasında bulunur. Mitoz bölünme, geç embriyonik dönemde duraklar. Doğumdan sonra ise devam eder. Devamındaki mayoz bölünme ile ilk aşamada, diploid genoma sahip spermatogonyumdan sekonder spermatositler oluşur. Mayozun ikinci evresinde ise sekonder spermatositlerden dört adet haploid genoma sahip ancak henüz olgunlaşmasını tamamlamamış hücreler meydana gelir (56).

Mayotik kromozom bozuklukları, germ hücrelerinde görülen ve somatik karyotipte saptanamayan, erkek infertilitesine neden olan anomalilerdir. Bu mayotik hatalar oligozoospermi, azospermi ve sayısal kromozom anomalileriyle kendini gösterir (57).

Huang ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, anormal spermatogenezi olan infertil hastaların germ hücreleri ile normal spermatogeneze sahip OA hastaları kıyaslanmıştır. 146 tübülde toplam 9309 germ hücresi analiz etmişlerdir. Beş normal spermatogeneze sahip olguda skorlanan 2.542 hücrenin %81,4'ü haploid, %15,6'sı ise diploid yapıda saptanmıştır. Anormal spermatogeneze sahip vakalarda ise haploid yapıların genel frekansı düşük saptanmıştır. Normal kontrol vakalarına kıyasla, üç

anormal grubun tümünde diploid yapıların genel sıklığında artış görülmüştür (58).

H. Martin ve arkadaşları, NOA'lı üç erkekte elde edilen testiküler sperm hücrelerinde multicolor FISH yöntemi ile 13, 21, X ve Y kromozomlarının anöploidi frekanslarını incelemiştir. 34-37 yaş aralığında normal FSH konsantrasyonları ve 46 XY somatik karyotipleri olan erkekleri araştırmaya dahil etmişler, üç infertil erkekte toplam 3324 spermatozoa incelemiştir. A hastasından 1035, B hastasından 400 ve C hastasından 100 spermatozoa 13 ve 21. kromozomlar, A hastasından 214, B hastasından 1236 ve C hastasından ise 329 spermatozoa cinsiyet kromozomu hibridizasyonu açısından analiz etmişlerdir. 18 normal kontrol grubundan alınmış olan ejakülatlardaki 363.157 spermatozoanın sonuçları ile karşılaştırmışlardır. Sonuçlara bakılınca özellikle A hastasının anöploidi sıklığını kontrol grubundan önemli derece yüksek bulmuşlardır. Ancak bunların hiçbiri istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (59).

Strassburger ve arkadaşları çalışma grubundaki hastaları hipospermatogenezis (HS) (n=3), matürasyon arresti (MA) (n=1) ve Sertoli cell only sendromu (SCOC) (n=8) olarak ayırmışlardır. HS hastalarının bir testisinden iki ayrı biyopsi almışlar, her üç hastada da olgun spermatozoa bulunmuş ve negatif olan testiküler süspansiyon örnekleri CCSS çalışması için kullanılmıştır. MA ve SCOC hastalarından alınan biyopsi örneklerinde sperm hücresi bulunamamış ve bu örneklerin tamamı CCSS çalışması için kullanılmış. Kontrollerden alınan örneklerde haploid/diploid hücre oranı 2:1 (67.6:32.2) iken çalışma grubunun oranı 1:9 (9.6:90.4) olarak saptanmıştır. HS, MA, SCOC hastalarında sırasıyla %21,5, %5,6, %5,5 haploid hücre ve %78,5, %94,5, %95,5 oranında diploid yapıda hücreler saptamışlardır. Bu çalışma ile azospermik hastalar ile normospermik kişiler arasında haploid hücrelerin frekansında büyük bir farklılık gözlemişlerdir (60).

Ushijima ve arkadaşları, oligoastenoteratozoospermi (OAT) olan sekiz infertil erkekte 13, 18, 21, X ve Y kromozomlarını multicolor FISH analizi ile incelemiştir. Sonuçlar, normal sperm profiline sahip 10 sağlıklı erkekle

karşılaştırılmış, hibridizasyon başına 5000 sperm, toplam >140.000 sperm analiz edilmiştir. 18 erkeğin her birinde diploid değer iki kez analiz edilmiş ve iki diploid değerde de anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Kontrol grubunda diploid oranı %0,16 iken, OAT grubunda %0,29 olarak bulunmuştur. Ayrıca, her iki otozomal ve seks kromozomu dizomi frekanslarında anlamlı bir artış göstermiştir. Sonuç olarak OAT grubundaki (n=8) hastaların çoğunda, kontrol grubuna (n=10) kıyasla dizomi ve diploid hücre oranlarının arttığını belirtmişlerdir (4).

Palermo ve arkadaşları, NOA'lı hastalardan elde ettikleri testis spermi ile OA'lı hastalardan elde ettikleri epididimal sperm örneğini, normal hastalardan elde ettikleri ejakülat örnekleriyle FISH tekniği ile karşılaştırmış, anöploidi oranları, OA'lı erkeklerde %1,8, NOA'lı erkeklerde %11,4, ejakülat sperminde ise %1,5 olarak tespit etmişlerdir. Böylece NOA'lı erkeklerin spermlerinin anöploidi oranlarını, epididimal spermden çok daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (61).

Sukcharoen ve arkadaşları, 24 OA'lı erkekten aldıkları epididimal örnekle, 24 normal erkekten aldıkları ejakülat örneklerini üç renkli FISH tekniği kullanarak 18, X ve Y kromozomları için anöploidi ve diploidi oranlarını kıyaslamışlardır. OA'lı erkeklerin, seks kromozomu anöploidisi, dizomi 18 ve diploidi oranları normospermik fertil erkeklerin ejakülat örneklerine kıyasla çok yüksek bulmuşlardır. Oranlar sırasıyla %1,44 - %0,14, %0,11 - %0,02, %0,18 - %0,02. OA'lı erkeklerin, daha yüksek anöploidi ve diploidi oranlarına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Ancak bu sonucun IVF/ICSI başarısında istatistiksel olarak bir farklılık yaratmadığını ortaya koymuşlardır (62).

Chiang ve arkadaşları NOA'lı hastalarda spermatogenezin varlığını araştırmış, 37 adet NOA'lı hastayı klinik olarak değerlendirdikten sonra histopatolojik değerlendirme için biyopsi almışlardır. Histopatolojik slaytlarda (giemsa) spermatid bulunan 11 olgunun 8'inde FISH tekniği uygulamışlardır ve bu örneklerde haploid yapıda hücreler saptamışlardır. Öte yandan histopatolojik slaytlarda spermatid bulunmayan 26 vakanın 21'inde FISH tekniği ile sadece diploid yapıda hücreler saptamışlardır (63).

Tarhan ve arkadaşları 35 infertil erkekte testis biyopsisi, hormon parametreleri ve semen analizlerini karşılaştırmışlar, spermiogram sonuçlarına göre hastaların 25'i azospermik ve 10'u da oligozoospermik olarak saptamışlardır. Testis patoloji sonuçları ise, inkomplet matürasyon arresti (%37,1), germ hücre aplazisi (%25,7) ve hipospermatogenez (%11,4) olarak belirtmişlerdir. Azoospermik hastalarda FSH ve LH normalin 2 katından fazla çıkmıştır. FSH, oligozoospermiklerde %80 oranında normal sınırlarda, LH ise %30 oranında normal değerinin altında saptanmıştır. Testosteron ise her iki grupta benzer dağılım göstermiştir (64).

Schoor ve arkadaşları, 153 azospermik olguda FSH düzeylerini kıyaslamışlar, bu çalışmada, FSH düzeyleri 7,6 IU/L'dan düşük olguların %96 oranında OA'lı oldukları buna karşılık FSH düzeyleri 7,6 IU/L'dan yüksek olguların %89 oranında NOA'lı olduklarını tespit etmişlerdir (65).

Ramasamy ve arkadaşları, yüksek FSH düzeyine sahip azospermik olguların mikro TESE sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Vakaları TESE öncesi, serum FSH seviyelerine göre 4 gruba ayırmışlardır. FSH seviyeleri; <15, 15-30, 31-45 ve >45 IU/L'dir. Sırasıyla sperm elde etme oranları; %51, % 60, %67 ve %60 olarak saptanmıştır. TESE uygulanan olgularda sperm bulma ihtimalinin FSH düzeyiyle anlamlı bir ilgisinin olmadığını savunmuşlardır (66).

Biz de yapmış olduğumuz çalışmada, azospermik erkeklerde medikal tedaviyi takiben hormonal değerlerin, FISH testi ile haploid hücre varlığı arasında bir korelasyon olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda hasta gruplarının FSH, LH, Total Testosteron ve Prolaktin hormonlarını değerlendirmeye aldık. Semende uygulanan multicolor FISH testinde tespit edilen haploid yapıda hücrelere sahip hastalarla, haploid yapıda hücre tespit edilmeyen hastaları iki gruba ayırdık. Medikal tedavi sonrası bu iki grup arasında hormonal değerler açısından anlamlı bir fark olmadığını tespit ettik.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamıza azoospermi teşhisi konulmuş ve ilk kez medikal tedavi uygulanacak 30 olgu dahil edilmiştir. Hastalara hCG tedavisini (haftada bir defa 5000 IU sc.) takiben, semende multicolor FISH testi uygulanmıştır. Aynı zamanda hormonal değerlendirmeleri (FSH, LH, Total Testosteron ve Prolaktin) yapılmıştır.

FISH testi sonucuna göre, haploid yapıda hücre tespit edilen ve edilmeyen hastalar iki gruba ayrılmıştır. Bu iki grubun hormon testi sonuçları karşılaştırıldığında analiz edilen iki grup arasında; FSH, LH, Total Testosteron ve Prolaktin değerleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Bu bulgular göz önüne alındığında; azoospermik hastaların medikal tedavilerinin takibinde kullanılan FISH incelemesinde haploid yapıda hücre saptanması ile hormonal incelemelerin (FSH, LH, Total Testosteron, Prolaktin) sonuçları arasında ilişki olmadığı sonucuna vardık.

Daha yüksek hasta sayıları ve daha uzun takip aralıklarında çalışmanın tekrarlanmasının, bu iki parametre arasındaki ilişkiyi ortaya koyması açısından önemli olacağını düşünüyoruz.

7. KAYNAKÇA

- 1) World Health Organization. WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- 2) Hwang K, Weedin JW, Lamb DJ. The use of fluorescent in situ hybridization in male infertility. *Ther Adv Urol.* 2010; 2(4):157-169.
- 3) Morel F, Laudier B, Guerif F, Couet ML, Royère D, Roux C ve ark. Meiotic segregation analysis in spermatozoa of pericentric inversion carriers using fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod.* 2007; 22(1): 136-141.
- 4) Ushijima C, Kumasako Y, Kihale PE, Hirotsuru K, Utsunomiya T. Analysis of chromosomal abnormalities in human spermatozoa using multi-colour fluorescence in-situ hybridization. *Hum Reprod.* 2000; 15(5):1107-1111.
- 5) Vera M, Peinado V, Al-Asmar N, Gruhn J, Rodrigo L, Hassold T, Rubio C. Human male meiosis and sperm aneuploidies. Storchova Z, editor. *Aneuploidy in health and disease.* Spain, USA: InTech; 2012.
- 6) Schorge JO, Schaffer JI, Halvorson LM, Hoffman BL, Bradshaw KD, Cunningham FG. *Williams Gynecology.* UK: McGraw-Hill Medical; 2008. p:427.
- 7) Aydoğan S, Süer C, Dursun N, Gölgeci A, Aşçıoğlu M, Çoksevim B, Dolu N. Erkek cinsiyet hormonları. Süer C, editör. *Temel Fizyoloji.* Kayseri: Medical Kitabevi; 2010. s:199-200.
- 8) Özsoy C, Sevilen F, Aytekin Y, Erbeni T, Türkoğlu S, Kervancıoğlu E, Erdoğan G, Sencer E. Erkek infertilitesine endokrinolojik yaklaşım. Erbeni T, editör. *Erkek İnfertilitesi.* İstanbul: İ.Ü. Basımevi ve Film Merkezi; 1991. s:67.
- 9) Orhon E. İnfertilite Pratiğinde Androlojik Algoritma. Erdem A, Audebert A, Yıldırım M, editörler. *İnfertilite ve Üreme Tıbbında Güncel Yaklaşımlar.* Ankara: Tivak Kongre Serisi; 2004. s:39,54,61.
- 10) Forti G, Krausz C. Evaluation and Treatment of the Infertile Couple. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83(12):4177-4188.
- 11) Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology.* 2006; *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş.* Çeviren: Demir R. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006. s:531,544.

- 12)** Gartner LP, Hiatt JL. Erkek üreme sistemi. Hürdağ C, Ünsal E, Dülger EÇ, editörler. Hücre Biyolojisi ve Histolojisi. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2016. s:350,351.
- 13)** Ross MH, Pawlina W. Histology A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology. 2010; Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas: İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile. 6. Baskı, Çeviren: Baykal B, Demir N, Ankara: Palme Yayıncılık, 2014. s: 784,790.
- 14)** Erkek Üreme Sistemi [İnternet]. [Erişim Tarihi 15.10.2017]
Erişim Adresi: <http://uroklinik.com.tr/uzmanlik-alanlarimiz/erkek-ureme-sistemi/>
- 15)** Junqueira LC, Carneiro J. Basic Histology Text & Atlas. 2002; Temel Histoloji Text & Atlas. 10. Baskı, Çeviren: Solakoğlu S, Aytekin Y, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009. s: 419,422.
- 16)** Ross MH, Pawlina W. Histology A Text and Atlas: With Correlated Cell and Molecular Biology. 2010; Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas: İlişkili Hücre Biyolojisi ve Moleküler Biyoloji ile. 6. Baskı, Çeviren: Baykal B, Demir N, Ankara: Palme Yayıncılık, 2014. s: 793,800.
- 17)** Erkek Genital Sistemi Histolojisi [İnternet]. [Erişim Tarihi 22.11.2017]
Erişim Adresi: <http://www.dicle.edu.tr/Contents/01baef8f-7b2e-4395-afc0-3132c45538c9.pdf>
- 18)** Spermiyogenez [İnternet]. [Erişim Tarihi 19.11.2017]
ErişimAdresi: <http://www.ossbiyoloji.net/konu%20anlatimi%20-%20hucre%20bolunmeleri.htm>
- 19)** Zülfikaroğlu G, Özgür H, Polat S. Kapasitasyonun Moleküler Temelleri. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. 2010; 19(12):12-21.
- 20)** Spermlerin hareket yeteneğini kazandığı spermatogenezin son evresi [İnternet]. [Erişim Tarihi: 19.11.2017]
Erişim Adresi: <http://t.ogren-sen.com/dogru/902/index.html>
- 21)** Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology. 2006; Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş. Çeviren: Demir R. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006. s:796,797.
- 22)** Alkan E, Başar MM. Sperm Motilite Bozuklukları: Terminoloji, Etiyoloji ve Tedavide Yenilikler. Androl Bul. 2014; sayı:58.

- 23)** Human Spermatozoa [İnternet]. [Erişim Tarihi 22.11.2017]
Erişim Adresi: <http://biyolojidersim.com/gametogenez-1-spermatogenez/>
- 24)** Kahraman S, Beyazyürek Ç. Current approaches in male infertility. 2. Güncel Üreme Endokrinolojisi, Yardımcı Üreme Teknikleri Kongresi ve 1. Üreme Tıbbı Derneği Kongresi, Konuşma Metinleri ve Bildiri Özetleri Kitabı; İzmir: 2008, s:38,41.
- 25)** Kruger TF, Oehninger. Temel semen analizi: yorum ve klinik uygulama. Rizk B, Garcia-Velasco J, Sallam H, Makrigiannakis A, editörler. Infertility and Assisted Reproduction. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2012. s:157.
- 26)** Kadioğlu A, Kandıralı E. Türk Androloji Derneği. İnfertilitede Erkeğin Rolü [İnternet]. [Erişim Tarihi 15.09.2017]
Erişim Adresi: <http://www.androloji.org.tr/6/hastalar-icin/26/infertilitede-kisirlik-erkegin-rolu>
- 27)** Günalp GS, Selçuk İ. Erkek İnfertilitesi. Çiçek N, editör. Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite El Kitabı. Ankara: Modern Tıp Kitabevi; 2013. s:269,275.
- 28)** Çayan S. Erkek İnfertilitesi Değerlendirme, Medikal ve Cerrahi Tedaviler. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı [İnternet]. [Erişim Tarihi 05.10.2017]
http://www.uroturk.org.tr/urolojiData/Uploads/files/Selahittin_cayan-Erkek_infertilitesi_degerlendirme_Medikal_ve_Cerrahi_Tedaviler_sertifikasyon.pdf
- 29)** Ariagno JI, Mendeluk GR, Pugliese MN, Sardi SL, Acuna C, Repetto HE, et al. The only presence of sperm in urine does not imply retrograde ejaculation. Arch Androl. 2005; 51(6):431-6.
- 30)** Satar DA, Gençdal S. Sperm Analysis. Archives Medical Review Journal. 2013; 22(4):532-542.
- 31)** Aydos K. İnfertil Erkeğin Değerlendirilmesi[İnternet]. [Erişim Tarihi 10.09.2017]
Erişim Adresi: <http://www.kaanaydos.com.tr/infertil-erkegin-degerlendirilmesi.html>
- 32)** Koşar PA, Özçelik N. Erkek İnfertilitesinde Genetik Değerlendirme. Süleyman Demirel Tıp Fak Derg. 2007; 14(3):48-51.

- 33)** Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology*. 2006; *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. Çeviren: Demir R. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006. s:548.
- 34)** Aydos K. İnfertil Erkeklerde Hormon Tedavisinde Güncel Durum [İnternet]. [Erişim Tarihi 17.11.2017]
Erişim Adresi: <http://www.kaanaydos.com.tr/infertil-erkeklerde-hormon-tedavisinde-guncel-durum.html>
- 35)** WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. Cambridge University Press. New York, 1999.
- 36)** Jarow JP, Espeland MA, Lipshultz LI. Evaluation of the azoospermic patient. *J Urol*. 1989; 142(1):62-65.
- 37)** Semerci B. Azoospermik Olgunun Değerlendirilmesi. *Androl Bul*. 2012; 51:247-250.
- 38)** Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Male Reproduction and Urology. Evaluation of the Azoospermic Men. *Fertil Steril*. 2008; 90(5): 74-77.
- 39)** Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Bern O, Kasterstein E, Komarovsky D, Ron-EI R. Azoospermik Erkeğin Değerlendirilmesi ve Tedavisi. Rızk B, Garcia-Velasco JA, Sallam HN, Makrigiannakis A, editörler. *Infertility and Assisted Reproduction*. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi; 2012. s:479.
- 40)** Çayan S. Erkek İnfertilitesinin Patofizyolojisine Yönelik Tedavilerin Art Başarısına Etkisi. Erdem A, Audebert A, Yıldırım M, editörler. *İnfertilite ve Üreme Tıbbında Güncel Yaklaşımlar*. Ankara: Tivak Kongre Serisi; 2004. s:81.
- 41)** Skakkebek NE, Hammen R, Philip J, Rebbe H. Quantification of human seminiferous epithelium. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section A Pathology*. 1973; 81A(2):97-111.
- 42)** Silber SJ, Patrizio P, Asch RH. Quantitative evaluation of spermatogenesis by testicular histology in men with congenital absence of the vas deferens undergoing epididymal sperm aspiration. *Hum Reprod*. 2004; 5(1):89-93.
- 43)** Lee JS, Park HJ, Seo JT. Nonobstrüktif Azoospermili Erkeklerde Varikosektomi Endikasyonu Nedir? *Urology Turkish Edition*. 2007; 3(2):71-75.

- 44)** Şalvarcı A. Nonobstrüktif Azoospermili Hastada Sperm Elde Etme Yöntemleri. *Androl Bul.* 2016; 18(65):118-125.
- 45)** Bahçe M. Erkek İnfertilitesinde Genetik Faktörler. Pabuçcu R, Fıçıcıoğlu C, Baysal B, editörler. *Üreme Endokrinolojisi Teknikleri ve Cerrahisi.* İstanbul; Nobel Tıp Kitabevleri, 2017.
- 46)** Martin RH. Cytogenetic determinants of male fertility. *Hum Reprod.* 2008; 14(4):379-390.
- 47)** Akdere H, Burgazlı M. Erkek İnfertilitesine Genetik Yaklaşım. *Androl Bul.* 2013; 54:207-211.
- 48)** Sivaslıoğlu B. Genetik Bozukluklar [İnternet]. [Erişim Tarihi 31.11.2017]
Erişim Adresi: <http://buraksivaslioglu.com/genetik-bozukluklar/>
- 49)** Shi Q, Martin RH. Aneuploidy in human spermatozoa: FISH analysis in men with constitutional chromosomal abnormalities, and in infertile men. *J Reprod Fertil.* 2001; 121(5): 655-666.
- 50)** Hwang K, Weedon JW, Lamb DJ. The use of fluorescent in situ hybridization in male infertility. *Ther Adv Urol.* 2010; 2(4):157-169.
- 51)** Sarrate Z, Blanco J, Anton E, Egozcue S, Egocue J, Vidal F. FISH studies of chromosome abnormalities in germ cells and its relevance in reproductive counseling. *Asian J Androl.* 2005; 7(3): 227-236.
- 52)** Martin RH, Spriggs E, Rademaker AW. Multicolor fluorescence in situ hybridization analysis of aneuploidy and diploidy frequencies in 225 846 sperm from 10 normal men. *Biol Reprod.* 1996; 54: 394-398.
- 53)** Estop A.M, Cieply K.M, Munne S, Feingold E. Multicolor fluorescence in situ hybridization analysis of the spermatozoa of a male heterozygous for a reciprocal translocation t(11;22)(q23;q11). *Hum Genet.* 1999; 104(5):412-7.
- 54)** Aras İ. Erkek infertilitesinde semen parametreleri ile sperm kromozom anöploidi sıklığı ilişkisinin araştırılması [Tıpta Uzmanlık Tezi]. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi; 2009.
- 55)** Ercan ÜG. Açıklanamayan İnfertilite Hasta Grubunda Yaşanan IVF Uygulama Başarısızlıklarında Sperm DNA Hasarı ve Anöploidinin Etkisi [Yüksek Lisans Tezi]. Ankara: Turgut Özal Üniversitesi. Ankara; 2015.
- 56)** Balçık P. Spermatid seçim kriterleri ve klinik kullanımı. *Androl Bul.* 2004; 16:29-32.

- 57)** Uroz L, Rajmil O, Templado C. Premature separation of sister chromatids in human male meiosis. *Hum Reprod.* 2008; 23(4):982-987.
- 58)** Huang WJ, Lamb DJ, Kim ED, Lara J, Lin WW, Lipshultz LI, Bischoff FZ. Germ-cell nondisjunction in testis biopsies of men with idiopathic infertility. *Am J Hum Genet.* 1999; 64(6):1638-1645.
- 59)** Martin RH, Greene C, Rademaker A, Barclay L, Ko E, Chernos J. Chromosome analysis of spermatozoa extracted from testes of men with non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod.* 2000; 15(5):1121-1124.
- 60)** Strassburger D, Komsky-Elbaz A, Reichart M, Raziell A, Kasterstein E, Komarovskiy D, et al. Computerized cell-scanning system for evaluating human spermatogenesis in non-obstructive azoospermic patients. *Reprod Biomed Online.* 2012; 24(1):101-108.
- 61)** Palermo GD, Colombero LT, Hariprashad JJ, Schlegel PN, Rosenwaks Z. Chromosome analysis of epididymal and testicular sperm in azoospermic patients undergoing ICSI. *Hum Reprod.* 2002; 17(3):570-575.
- 62)** Sukcharoen N, Ngeamvijawat J, Sithipravej T, Promviengchai S. High sex chromosome aneuploidy and diploidy rate of epididymal spermatozoa in obstructive azoospermic men. *J Assist Reprod and Genet.* 2003; 20(5): 196-203.
- 63)** Chiang HS, Yeh SD, Lin WM, Fang CL, Wei HJ. Correlation between fluorescence in situ hybridization and testicular biopsy for the prediction of spermatogenesis in 37 patients with nonobstructive azoospermia. *Urology.* 2002; 60(6): 1063-1068.
- 64)** Tarhan F, Saraçoğlu M, Yıldız K. The relation between testicular biopsy hormone values and semen analyze in infertile ales. *Turk Urol Derg.* 1991; 17(1): 83-89.
- 65)** Schoor RA, Elhanbly S, Niederberger CS, Ross LS. The role of testicular biopsy in the modern management of male infertility. *Journal Urol.* 2002;167(1): 197-200.
- 66)** Ramasamy R, Lin K, Gosden LV, Rosenwaks Z, Palermo GD, Schlegel PN. High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril.* 2009; 92(2): 590-593.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Gazel KIZILIRMAK

Doğum Yeri ve Tarihi : Adana, 10.08.1987

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2005-2010).

Yüksek Lisans Öğrenimi : Ufuk Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Klinik Embriyoloji Programı (2015-2018).

Bilimsel Faaliyetleri :

İş Deneyimi

Stajlar :

Projeler :

Çalıştığı Kurumlar : Ankalife Tüp Bebek Merkezi (2011-2016), Genart Tüp Bebek Merkezi (2016-2017).

İletişim

E-Posta Adresi : gazelkizilirmak@gmail.com

Tarih : 12.02.2018