

NONOBSTRÜKTİF AZOSPERMİ OLGULARINDA YENİ YAKLAŞIMLAR

APPROACHES IN NONOBSTRUCTIVE AZOOPERMIA CASES

Murat Serkant ÜNAL, Mehmet Caner ÖZER
Denizli Devlet Hastanesi, İnfertilite Merkezi, Denizli

Cite this article as: Ünal MS, Özer MC. New Approaches in Nonobstructive Azoopermia Cases. Med J SDU 2019; 26(1): 111-116.

Öz

Azospermi semende hiç sperm bulunamaması durumudur. Obstrüktif ve nonobstrüktif olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Azospermi tanısı alan hastalardan elde edilen spermatozoayla, ilk gebelik ICSI (intrasiytoplazmik sperm enjeksiyonu) işlemiyle 1993 yılında oluşmuştur. Obstrüktif azospermi olgularında sperm bulma şansı daha yüksek olmasına karşın, erkek infertilitesinin en şiddetli formu olan nonobstrüktif azospermide ise bu oran yaklaşık olarak %40-50 aralığındadır. Yapılan mikroTESE (testiküler sperm ekstraksiyonu) işlemiyle testiste immatür germ hücreleri bulunursa ROSI (round spermatid enjeksiyonu) işlemi yapılır ya da in vitro kültürlerle bu hücreler farklılaştırılmaya çalışılır. Matür germ hücresi bulunamayan bir mikroTESE sonrasında, hormon replasmanı veya ilaç tedavileriyle spermatozoaların elde edilmesi hedeflenir.

Son yıllara kadar testislerde varlıkları bilinen spermatogoniumlara (sperm kök hücresi) ek olarak, yeni keşfedilen VSEL (very small embryonic-like stem cell) kök hücrelerinin gösterilmesi tedavi yönündeki umutları daha da artırmıştır. Bunlardan başka deneysel olarak, hücre kültürleri, seminifer tübül kültürleri, organ kültürleri, testiküler organoidler, gen tedavileri ve kök hücre bazlı tedavilerin etkinliği gösterilmiştir. İnsan üzerinde başlayan gen terapilerinde ve mezenkimal kök hücre çalışmalarında, önemli ilerlemeler olması nedeniyle yakın bir zamanda azospermi tedavisinde de önemli gelişmeler olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: İmmatür germ hücreleri, matürasyon arresti, ROSI, fertilizasyon, in vitro kültür.

Abstract

Azoospermia is the complete absence of any sperm in semen. Azoospermia is classified as obstructive azoospermia or non-obstructive azoospermia. The first pregnancy occurred in 1993 with ICSI (intracytoplasmic sperm injection) operation with spermatozoa obtained from azoospermic patients. While the chance of successful retrieval of sperm in men with obstructive azoospermia is high, the sperm retrieval rate in men with non-obstructive azoospermia is approximately 40-50%. If immature germ cells are found in testis with microTESE (testicular sperm extraction), ROSI (round spermatid injection) treatment is performed or these cells are differentiated by in vitro cultures. Mature germ cells can not be found after microTESE, obtaining spermatozoa by hormone replacement or drug therapy is targeted.

In addition to spermatogoniums, a population of very small embryonic-like stem cells (VSELs) was identified in testes recently. The demonstration of VSELs has further increased treatment prospects. Other than these experientially, cell cultures, seminiferous tubule cultures, organ cultures, testicular organoids, gene treatments and stem cell-based treatments have been shown to be efficacious. In humans, gene therapy and mesenchymal stem cell studies have made significant progress therefore it is thought that there will be significant developments in the treatment of azoospermia in the near future.

Keywords: Immature germ cells, maturation arrest, ROSI, fertilization, in vitro culture

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: serkantunal72@gmail.com

Müracaat tarihi/Application Date: 15.02.2018 • **Kabul tarihi/Accepted Date:** 12.03.2018

©Copyright 2018 by Med J SDU - Available online at <http://dergipark.gov.tr/sdutfd>

©Telif Hakkı 2018 SDÜ Tıp Fak Derg - Makaleye <http://dergipark.gov.tr/sdutfd> web sayfasından ulaşılabilir.

Giriş

Testis, seminifer tübüller ve interstisiyumdan oluşur. Seminifer tübüllerde germinal hücreler ve sertoli hücreleri bulunur. İnterstisiyum ise peritübüler myoid hücreler, leydig hücreleri, makrofajlar ve vasküler yapıları içerir. Bu hücreler salgıladıkları insülin büyüme faktörü (IGF1), retinoik asit (RA), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), glial hücre hattından kaynaklanan nörotrofik faktör (GDNF) ve koloni stimüle edici faktörlerle (CSF) spermatogonial kök hücreleri etkileyerek farklılaşmasını ve çoğalmasını sağlarlar (1). Spermatozoa seminifer tübüllerde üretildikten sonra epididimde hareket ve fertilizasyon özelliğini kazanarak maturasyonunu tamamlar ve seminal bezlerin salgıladığı seminal sıvıyla birleşerek semeni oluşturur (2,3).

Azospermi semende hiç sperm bulunamaması durumudur. Erkek nüfusunun yaklaşık %1'inde ve erkek infertilitesine sahip hastaların %10-15' de bulunur (4). Azospermi teşhisi koymak için, ilk analizden bir ay sonra testi tekrarlamak gerekir. Bazen toksik, çevresel, enfeksiyon ve iyatrojenik durumlara sekonder olarak geçici azospermiler görülebilir. Aynı günde ardışık semen örnekleri alınarak sperm bulma şansı artırılabilir (5).

Azosperminin tıkanıklığa bağlı (obstrüktif) ve tıkanıklığa bağlı olmayan (nonobstrüktif) iki tipi vardır. Genellikle obstrüktif azospermi ve nonobstrüktif azospermi ayrımı klinik bulgularla yapılmasına rağmen bazı olgularda histopatolojik değerlendirmeyle teşhis konur (4).

Obstrüktif azospermide tamamlanmış bir spermatogenez vardır. Obstrüktif azospermi nedenleri; vazektomi, herni tamiri, epididimal kist çıkarılması, prostatektomi, skrotal cerrahi, konjenital bilateral vas deferens yokluğu, enfeksiyon, ejakülatör kanal obstrüksiyonu ve idiyopatiktir. Nonobstrüktif azospermi nedenleri ise spermatojenik yetmezliğe neden olan Y kromozom mikrodelsyonları, Klinefelter sendromu, kriptorşizm, kemoterapi, radyoterapi, enfeksiyon, testiküler travma, torsiyon, idiyopatik, Kallman sendromu ve hipofiz tümörleri sayılabilir (5,6).

Bizim bu derlemedeki amacımız nonobstrüktif azospermi olgularında sperm elde etme açısından tek seçenek olarak yapılan mikroTESE'nin dışında; gen tedavileri, hücre kültürleri, kök hücre ve testiküler organoidler gibi ileride tedavi için umut olabilecek uygulamaları incelemektir.

Nonobstrüktif Azospermi Etiyolojisi ve Tedavi Seçenekleri

Nonobstrüktif azospermide histolojik olarak ya germ hücre aplazisi, matürasyon arresti ya da tübüler skleroz ve atrofi görülür. (4). Nonobstrüktif azospermide genellikle testisler küçük boyutta ve yumuşaktır. Matürasyon arrestinde ise testisler normal boyuttadır. Testisteki sekonder yetmezlik endokrin bozukluklara bağlı olarak gelişir (hipogonadotropik hipogonadizm) ve yapılan analizlerde FSH, LH ve testosteron hormonlarının düşük olduğu görülür. Bu tanıyı alan hastalar hormon replasmanı yapılarak başarı ile tedavi edilebilir (7).

Nonobstrüktif azospermi hastalarında nedeni bulmaya yönelik olarak FSH, LH, SHBG, testosteron, prolaktin ve estradiol hormon testleri yapılır. Ayrıca periferik karyotip analizi, Y kromozomu mikrodelsyonu gen analizleri uygulanır. Kromozomlarda yapısal veya sayısal bozukluklar olabilir. Yapısal bozukluklar translokasyon ve inversiyon şeklinde görülür. En sık görülen sayısal kromozom anomalisi ise Klinefelter sendromudur ve bu olguların mozaik ve non-mozaik formları vardır (5,8).

Sperm üretmedeki problem testis biyopsisi ve histopatolojik değerlendirmeyle anlaşılır. Sadece tanı amaçlı testis biyopsisi hem doku kaybına hem de travmaya yol açtığı için artık uygulanmamaktadır. Testis biyopsisinin yapıldığı durumlarda ister hücre süspansiyonu olsun ister doku parçaları şeklinde olsun kriyoprezervasyon işlemi önerilmektedir. Dondurma yönteminin, spermelerde canlılık ve hareket azalmasına yol açabileceği de bilinmelidir (5). Obstrüktif nedene bağlı azospermide cerrahi yöntemle spermatozoa bulma oranı çok yüksektir. Nonobstrüktif azospermi'de sperm elde etme bakımından çeşitli cerrahi yöntemler olmasına karşın, son yıllarda mikroTESE (microdissection testicular sperm extraction) altın standart yöntem olarak ön plana çıkmıştır (9). MikroTESE operasyonu X 15-25 büyütmelemlerle mikroskop altında gerçekleştirilir ve bu işlemde damar yapısı korunurken doku kaybı minimal olmaktadır. Operasyonda daha dolgun genişlemiş ve opak beyaz renkli tübüller seçilir. Renkli doppler ultrasonografi ile kanlanmanın fazla olduğu alanlar belirlenerek spermatozoa bulmada faydalı olabilir. Daha önceleri sıkça yapılan TESE işleminin mikroTESE' ye göre en büyük dezavantajı, büyük miktarda testiküler tübüllerin alınmasına bağlı olarak doku kaybıdır. Sperm elde etme oranı mikroTESE'de, TESE yöntemine göre daha yüksektir. Bu işlemlerden sonra androjen üretimi geçici veya kalıcı olarak azalır ve hipogonadizm görülebilir (5).

Bir mikroTESE işlemi öncesinde, testislerdeki spermatozoaları bulma olasılığının tahmini için bazı belirteçler gösterilmiştir. Bunlardan biri olan Lim15 geni, testis dokusunda mayoz bölünme potansiyelini gösteren bir belirteçtir (10). ESX1 geni spermatogonionlardan spermatozoid, spermatid ve spermatozoidlerin gelişmesini indüklemektedir (11). TEX101 proteini de testiste spermatozoa varlığı açısından önemli bir belirteçtir (12). Jumonji domain içeren 1a (JMJD1A) spermatogenezini düzenleyen epigenetik bir düzenleyicidir ve post-mayotik germ hücrelerinin spermatozoalara farklılaşmasında önemli rol oynamaktadır (13). Bütün bu belirteçlerin mikroTESE işleminde sperm bulma tahmini açısından önemli oldukları gösterilmiştir.

Diğer yandan genetik ve kromozom analizleri, testis hacmi, AMH, FSH, LH, testosteron, prolaktin ve inhibin B seviyelerinin, mikroTESE sonuçlarıyla ilişkisinin araştırıldığı çalışmalarda tutarlı sonuçlar bulunamamıştır. Bundan dolayı histolojik paternin başarı sürecinde daha önemli bir belirleyici olduğu ileri sürülmüştür (14-20). Genel olarak mikroTESE işlemi sonucu nonobstrüktif azospermi olgularında sperm elde etme başarısının %41.4, hipospermatogeneziste %100, maturasyon arrestinde %40.3, germ hücre aplazisinde %19.5 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca obstrüktif azospermide elde edilen spermatozoa ile (%37.5), nonobstrüktif azospermi (%21.4) ve ejakülatla elde edilen spermatozoidden (%32.3) daha yüksek oranda canlı doğumlar rapor edilmiştir. Bu durum nonobstrüktif azospermi tanısı alan kişilerin spermatozoidlerinin genetik materyal ve sentrozom bozukluğuyla ilişkilendirilebilir (5).

Nonobstrüktif azospermi tedavisinde amaç, hormonları normal fizyolojik düzeylerine çekmektir. FSH normalden fazla artmışsa düşürmek, testosteron düşüğe yükseltmek ve testosteron/estradiol dengesini kurmaktır. Normalde salgılanan testosteron ile estradiol hormonu ve SHBG (seks hormonu bağlayan globülin) arasında bir korelasyon vardır. Testosteron SHBG ile bağlanarak testis içerisinde (dolaşımdakinin 100 katı olacak şekilde) yüksek miktarlarda bulunur. Bu yüksek testosteron seviyeleri spermatogenezin post mayotik aşamasında round spermatidin elongating spermatide farklılaşmasına neden olur (21). İlaç olarak klomifen sitrat, aromatoz inhibitörleri, human koryonik gonadotropin (hCG), gonadotropinler, GnRH analogları, semptomimetik ajanlar kullanılır (2,21). Sperm bulunamayan bir mikroTESE'den sonra, hormon replasmanı veya ilaç tedavileriyle sperm elde etme şansı artabilir (21-23). Takip için daha sonrasında ejakülatla immatür hücreler, (spermatozoid ve spermatid) boyalı preperasyonlar ya da FISH gibi tetkiklerle aranabilir. Eğer ejakülatla haploid yapıya sahip bu hücreler gös-

terilirse, sonrasında yapılacak mikroTESE ile spermatozoa bulma şansının arttığı bildirilmiştir (24,25).

İmmatür Germ Hücrelerinin İn Vitro Matürasyonu ve ROSI İşlemi

Testiste bulunan çok küçük embriyon benzeri kök hücrelerin (VSELs) spermatogonionları oluşturduğu gösterilmiştir. Bu hücreler asimetric olarak bölünür, kendini yeniler (self-renewal) ve progenitor hücre oluştururlar. Az sayıda bulunurlar ve çok küçüktürler (3-5 µm). Dokuların kök hücre havuzunu oluşturur ve stres altında mobilize olurlar. VSEL kök hücrelerinin fonksiyonlarında oluşan dengesizlik kansere neden olabilir. Bunlardan oluşan spermatogonium spermatozoidi, o da mayoz bölünmeye uğrayarak spermatid oluşturur. (26). Spermatogonia nükleusu yaklaşık 8µm, spermatozoid 10 µm, spermatid 5µm büyüklüğündedir (27).

VSEL kök hücreleri ve spermatogonionlar PCNA (proliferating cell nuclear antigen) eksprese ederler. Ayrıca testiste sertoli hücreleri, VSEL ve SSCs (spermatogonial kök hücrelerin) FSHRs (FSH reseptörleri) vardır. Bunların yanında kemik iliği ve kordon kanı VSEL kök hücrelerinin de FSHRs eksprese ettiği gösterilmiştir. SSCs farklılaşması direk olarak parakrin mekanizmayla sertoli hücreleriyle kontrol edilirken, klonal genişleme ve proliferasyon ise endokrin olarak da salınan FSH ile kontrol edilir (28). Busulfon ile kemoterapi uygulanmış farelerin testislerinde VSEL kök hücrelerinin muhafaza edildiği görülmüş bunlara sağlıklı niş (kemik iliğinden derive edilen mezenkimal kök hücreler) transplante edildiğinde spermatogenezin başladığı görülmüştür (29-31). Aynı şekilde üreme çağındaki kanser hastalarında da uygulanan kemoterapi sonrasında testis ve ovaryumlarında VSEL kök hücreleri olduğu gösterilmiştir (32). Puberte öncesi kanser vakalarında fertilizasyonun muhafazası için, spermatogonial kök hücreleri içeren testiküler hücre süspansiyonu veya tüm doku parçası kriyoprezervasyonla korunmaktadır (33).

İmmatür germ hücrelerinin in vitro kültürleri ise bu hücreleri olgunlaştırma amacı taşımaktadır. Reda ve ark. sıçandan elde ettikleri farklı testiküler hücreleri, oluşturdukları kültürlerde spermatogoniumdan spermatozoid kadar farklılaştırmışlar fakat daha ileri maturasyon gözlemleyememişlerdir. Bunu sertoli hücrelerinin destek yetersizliğine bağlamışlardır (34). Chan ve ark. fare testisinden sertoli, leydig ve spermatogonik hücrelerini izole etmişlerdir (35). Lakpour ve ark. ise insan testisinden sertoli hücrelerini TESE işlemiyle izole ederek kültüre etmişlerdir. Sertoli hücreleri özellikle spermatogonial proliferasyon aşamasında spermatogenezini destekler. Seminifer tübüllerini, otoanti-

genlerden ve patojenlerden oluşturdukları kan-testis bariyerleriyle korur ve salgıladığı maddeler spermatogenez için hayati role sahiptir (36). Heidargholizadeh ve ark. ise FSH'nin (nonobstrüktif azospermili hastalardan izole ederek kültüre ettikleri) sertoli hücreleri üzerindeki etkilerini göstermişlerdir (37).

Matürasyon arrestinde, germ hücrelerini in vitro kültürlerle matür hale getirmek en büyük hedefdir. En fazla primer spermatosit safhasında matürasyon arresti olmaktadır. Kültürler ya tek tabakalı somatik hücreler üzerine izole edilen germ hücreleriyle birlikte co-kültür şeklinde ya da izole edilen seminifer tübül kültürü şeklinde oluşturulmaktadır. Sertoli hücreleriyle birlikte yapılan seminifer tübül kültürlerinde FSH'nin, spermatositlerin spermatidlere dönüşümünü arttığı, testosteronun ilavesinin ise FSH'nin etkisini yükselttiği ve sertoli hücrelerinin apoptozisini önlediği gösterilmiştir. Ayrıca flagellar büyüme, nüklear kondensasyon, periferik migrasyon, spermatid nükleus protrusionu ve akrozom farklılaşmasının FSH hormonuna bağlı olduğu rapor edilmiştir. Bunun tersine bazı çalışmalarda ise spermatositlerin spermatidlere dönüşümü için herhangi bir hormon eklenmesine gerek olmadığı bildirilmiştir (4). Geçmişten günümüze kadar kültür şartlarında önemli ilerlemeler olmasına rağmen optimize kültür şartları halen bilinmemektedir.

Organoidler embriyonik kök hücrelerden, indüklenmiş kök hücrelerden ve yetişkin kök hücrelerinden köken alarak üretilir. Son zamanlarda beyin, prostat, dil, karaciğer, bağırsak, ovaryum ve mesane organoidleri oluşturulmuştur. Kullanım alanları rejeneratif tıp, ilaç araştırmaları ve gen tedavileridir. Testiküler organoidler ise üreme tıbbi ve biyolojisinde kullanım alanı bulan yenilikçi bir platformdur. Germ hücreleriyle oluşturulmuş in vitro kültürler 2 boyutlu oldukları için, bu hücrelerin gelişimini ve niş ortamlarıyla etkileşmesini göstermesi bakımından yetersiz kalmaktadır. Testiküler organoidler ise 3 boyutlu yapılarıyla, hücre-hücre etkileşimi ve hücre mikroçevre ilişkilerini yansıtması açısından gerçek testis yapısına yakın oluşumlardır. Spermatogonial kök hücrelerin (SSCs) nişi; çoğalması ve farklılaşması yönünde halen bilinmeyen birçok faktör vardır. Testiküler organoidler bizlere, bu mekanizmaların aydınlatılması için fırsatlar sunabilir (38-42).

MikroTESE işlemi ile immatür germ hücreler elde edildikten sonra iki yol vardır. Birincisi bu hücreleri in vitro ortamda matür hale getirmek, ikincisi ise ROSI veya ELSI işlemi uygulamaktır. Elongated spermatid enjeksiyonu (ELSI) ile, round spermatid enjeksiyonu (ROSI) 'e göre gebelik oranları daha fazladır. Ayrıca mikroTESE işleminde bulunan round spermatid ile ejakülattaki round spermatide göre daha fazla gebelik

elde edilmiştir (4). Bunun nedeni immatür hücrelerin seminal sıvıyla temasları ve epididimde geçen süreler olabilir. Seminal sıvı ve epididim; antikör, ilaç kalıntısı, reaktif oksijen türleri, toksin, lökosit, epitel artığı ve ağır metaller içerebilir (3).

Spermatidler şekil, sitoplazma miktarı ve kuyruk uzunluğuna göre dört kategoriye ayrılır (round, elongating, elongated ve tam elongated spermatid). Spermatidi öteki yuvarlak hücrelerden ayırmak için hoffman modülasyonuna sahip kontrast veya konfokal tarayıcı lazer mikroskobu kullanılır. Spermatidler haploid sayıda kromozoma sahiptirler ve bunlarda matürasyon arresti nadir olarak görülür. Yapılan biyopsilerde round spermatid bulunduğu elongated spermatid ve spermatozoanın da bulunabileceği rapor edilmiştir. İmmatür germ hücreleriyle yapılan ICSI işlemi genetik ve epigenetik riskler taşır. İngiltere'de immatür germ hücreleriyle ICSI işlemi yasaklanmıştır. Yapılan işlem sonucu konjenital malformasyonlar ortaya çıkabilir ve PGD (preimplantasyon genetik tanı) ile anneyosentez bu tür gebelikler için önem taşır. Germ hücrelerinin sitoplazmasında bulunan sentrozomlar normal embriyonik gelişim için gereklidir. Spermatidlerdeki anormal veya bozulmuş immatür sentrozomlar embriyolarda anomalilere yol açabilir (5).

Bütün bunlara rağmen round spermatid kullanarak yapılan ROSI işlemiyle 14 canlı doğum olduğu bildirilmiştir. Bebeklerin hepsinin normal fiziksel, mental ve epigenetik özelliklere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu başarıya kadar ROSI işleminin çok etkisiz ve klinik olarak değerinin olmadığı düşünülüyordu. Tanaka ve ark. in vitro matürasyon için yapılan kültürlerde, primer spermatositin round spermatidin ötesine geçmediğini görmüşlerdir. Yaptıkları mikroTESE operasyonunda, elongated spermatid veya spermatozoa bulamadıkları için round spermatidle işlem yapmışlar fakat oositlerde az miktarda ossilasyon oluştuğunu gözlemlenmişlerdir. Bu sorunu aşmak için ROSI işlemi öncesinde, oositlere elektriksel stimülasyon uygulamışlar böylece daha fazla Ca ossilasyonları elde ederek başarılı olmuşlardır (43). ROSI işleminin somut sonuçları bu yöndeki tedavilere farklı bir pencere açmıştır.

Diğer yandan yeni jenerasyon sekanslama sperm üretimi ile genlerin tümünün incelenmesini olanaklı kılmıştır. Açıklanamayan azospermi olgularında spermle ilgili birçok faktörün bunlarla ilgili olduğu anlaşılmıştır (44).

Sonuç

Nonobstrüktif azospermideki; testiküler organoidler, seminifer tübül kültürleri, hormon ve gen tedavilerinin

deki yeni gelişmelere bağlı olarak üroloji, histoloji ve embriyoloji, üreme endokrinolojisi, doku mühendisliği ve genetik bilimleri arasındaki işbirliğini önemli hale gelmiştir. Son zamanlarda retinal displazi hastalıklarında gen terapisi için bir ilacın FDA onayı alması, bu tedavilerin ileri bir boyuta geçtiğini gözler önüne sermektedir. İleride genetik nedenlere bağlı olarak gelişen azospermi olgularında yapılacak tedavilerle belki de mikroTESE operasyonlarına ihtiyaç azalacaktır.

Nonobstrüktif azospermi olgularında önceden bilinen ve yeni bulunan belirteçlerle birlikte standartize edilmiş paneller oluşturularak, sperm elde etme oranları tahmin edilebilir. Buna bağlı olarak mikroTESE'nin doğru zamanda yapılması başarı şansını artıracaktır. Operasyonundan sonra oluşan inflamatuvar süreç nedeniyle 6 ay içinde yeni bir girişim tavsiye edilmez. Oluşan fibrozisi ve devaskularizasyonu işlem anında verilecek olan, kişinin olog mezenkimal kök hücreleriyle en aza indirmek mümkün olabilir. Mezenkimal kök hücrelerin rejeneratif (yenileyici) ve reperatif (tamir edici) özellikleri vardır. Mkh'lerin inflamasyonu, fibrozisi azalttığı, dokularda angiogeneze neden olduğu ve fokal doku hasarı tamir işleminde aktif role sahip oldukları gösterilmiştir. Bu hücrelerin seminifer tübüllerin mikroçevresini tekrar oluşturması açısından spermatogenez için önemli fonksiyonları olabilir.

Bazı araştırmacılar azospermiyi obstrüktif ve non-obstrüktif olarak diğerleri ise pretestiküler, testiküler ve posttestiküler olmak üzere üç kategoriye ayırmıştır. Hiçbir sınıflama azosperminin nedenlerini tam olarak kapsamamaktadır. Bütün burada belirttiğimiz yaklaşımlara paralel olarak, azosperminin klasik sınıflandırması değiştirilmesi sonucu etyolojiye bağlı tedaviler gözden geçirilebilir ve bu konuda yeni görüşlere ihtiyaç vardır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmişlerdir.

Kaynaklar

- Potter SJ DeFalco, Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. *Reproduction* 2017;153(4)
- Leir SH, Browne JA, Eggener SE, Harris A. Characterization of primary cultures of adult human epididymis epithelial cells. *Fertil Steril* 2015;103(3):647-54
- Ünal MS, Özer MC, Sönmez FH, Bayrak G, Demirbağ HO. Seminal sıvının fertilizasyondaki rolü. *Androl Bul* 2017; 19(3):1-6
- Vloeberghs V, Verheyen G, Tournaye H. Intracytoplasmic spermatid injection and in vitro maturation: fact or fiction? *Clinics (Sao Paulo)* 2013;68 Suppl 1:151-6.
- Esteves SC. Clinical management of infertile men with non-obstructive azoospermia. *Asian J Androl* 2015;17(3):459-70
- Ibtisham F, Wu J, Xiao M, An L, Banker Z, Nawab A. Progress and future prospect of in vitro spermatogenesis. *Oncotarget* 2017; 27;8(39):66709-66727.
- Bakircioglu ME, Erden HF, Ciray HN, Bayazit N, Bahçeci M. Gonadotrophin therapy in combination with ICSI in men with hypogonadotrophic hypogonadism. *Reprod Biomed Online* 2007;15(2):156-60.
- Donker RB, Vloeberghs V, Groen H, Tournaye H, van Ravenswaaij-Arts CMA, Land JA. Chromosomal abnormalities in 1663 infertile men with azoospermia: the clinical consequences. *Hum Reprod* 2017;1;32(12):2574-2580
- Flannigan R, Bach PV, Schlegel PN. Microdissection testicular sperm extraction. *Transl Androl Urol*. 2017;6(4):745-752
- Hamada FN, Koshiyama A, Namekawa SH, Ishii S, Iwabata K, Sugawara H. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) interacts with a meiosis-specific RecA homologues, Lim15/Dmc1, but does not stimulate its strand transfer activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 26;352(4):836-42
- Pansa A, Sirchia SM, Melis S, Giacchetta D, Castiglioni M, Colapietro P. ESX1 mRNA expression in seminal fluid is an indicator of residual spermatogenesis in non-obstructive azoospermic men. *Hum Reprod*. 2014;29(12):2620-7
- Korbakis D, Schiza C, Brinc D, Soosaipillai A, Karakosta TD, Legare C. Preclinical evaluation of a TEX101 protein ELISA test for the differential diagnosis of male infertility. *BMC Med*; 2017 23;15(1):60
- Eelaminejad Z, Favaedi R, Modarresi T, Sabbaghian M, Sadighi Gilani MA, Shahhoseini M. Association between JMJD1A Expression and Sperm Retrieval in Non-Obstructive Azoospermic Patients. *Cell J* 2018;19(4):660-665
- Spahovic H, Göktolga Ü, Junuzovic D, Göktaş Ç, Rama A. Evaluation of Prognostic Factors and Determinants in Surgical Sperm Retrieval Procedures in Azoospermic Patients. *Med Arch*;2017;71(4):243-245
- Kim SY, Kim HJ, Lee BY, Park SY, Lee HS, Seo JT. Y Chromosome Microdeletions in Infertile Men with Non-obstructive Azoospermia and Severe Oligozoospermia. *J Reprod Infertil* 2017;18(3):307-315.
- Chu QJ, Hua R, Luo C, Chen QJ, Wu B, Quan S, Zhu YT. Relationship of genetic causes and inhibin B in non obstructive azoospermia spermatogenic failure. *BMC Med Genet* 2017; 6;18(1):98
- Althakafi SA, Mustafa OM, Seyam RM, Al-Hathal N, Kattan S. Serum testosterone levels and other determinants of sperm retrieval in microdissection testicular sperm extraction. *Transl Androl Urol* 2017;6(2):282-287
- Güneri Ç, Alkibay T, Tunç L. Effects of clinical, laboratory and pathological features on successful sperm retrieval in non-obstructive azoospermia. *Turk J Urol* 2016;42(3):168-77
- Salehi P, Derakhshan-Horeh M, Nadeali Z, Hosseinzadeh M, Sadeghi E, Izadpanahi MH. Factors influencing sperm retrieval following testicular sperm extraction in nonobstructive azoospermia patients. *Clin Exp Reprod Med* 2017;44(1):22-27
- Alfano M, Ventimiglia E, Locatelli I, Capogrosso P, Cazzaniga W, Pederzoli F. Anti-Mullerian Hormone-to-Testosterone Ratio is Predictive of Positive Sperm Retrieval in Men with Idiopathic Non-Obstructive Azoospermia. *Sci Rep* 2017; 15;7(1):17638
- Shiraishi K, Matsuyama H. Gonadotropin actions on spermatogenesis and hormonal therapies for spermatogenic disorders. *Endocr J* 2017;27;64(2):123-131
- Shiraishi K, Ohmi C, Shimabukuro T, Matsuyama H. Human chorionic gonadotrophin treatment prior to microdissection testicular sperm extraction in non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod* 2012;27(2):331-9.
- Oka S, Shiraishi K, Matsuyama H. Effects of human chorionic gonadotropin on testicular interstitial tissues in men with non-obstructive azoospermia. *Andrology* 2017;5(2):232-239
- Garolla A, Selice R, Engl B, Bertoldo A, Menegazzo M, Finios L. Sperm count as a predictor of response to FSH therapy. *Reprod Biomed Online* 2014;29(1):102-12
- Amer M, Abd Elnasser T, El Haggag S, Mostafa T, Abdel-Malak G, Zohdy W. May-Grünwald-Giemsa stain for detection of

- spermatogenic cells in the ejaculate: a simple predictive parameter for successful testicular sperm retrieval. *Hum Reprod* 2001;16(7):1427-32
26. Bhartiya D, Shaikh A, Anand S, Patel H, Kapoor S, Sriraman K. Endogenous, very small embryonic-like stem cells: critical review, therapeutic potential and a look ahead. *Hum Reprod Update* 2016;23(1):41-76.
 27. WHO laboratuvar el Kitabı. Kadioğlu A, Çev.ed, Beşinci basım , Türk üroloji derneği, Nobel tıp kitabevleri, İstanbul: 2011;1-271.
 28. Patel H, Bhartiya D. Testicular Stem Cells Express Follicle Stimulating Hormone Receptors and Are Directly Modulated by FSH. *Reprod Sci* 2016;23(11):1493-1508
 29. Anand S, Bhartiya D, Sriraman K, Mallick A. Underlying Mechanisms that Restore Spermatogenesis on Transplanting Healthy Niche Cells in Busulphan Treated Mouse Testis. *Stem Cell Rev* 2016;12(6):682-697
 30. Anand S, Patel H, Bhartiya D. Chemoablated mouse seminiferous tubular cells enriched for very small embryonic-like stem cells undergo spontaneous spermatogenesis in vitro. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;18;13:33.
 31. Fazeli Z, Abedindo A, Omrani MD, Ghaderian SMH. Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Therapy for Recovery of Fertility: a Systematic Review. *Stem Cell Rev* 2017
 32. Kurkure P, Prasad M, Dhamankar V, Bakshi G. Very small embryonic-like stem cells (VSEs) detected in azospermic testicular biopsies of adult survivors of childhood cancer. *Reprod Biol Endocrinol* 2015; 9;13:122.
 33. de Michele F, Vermeulen M, Wyns C. Fertility restoration with spermatogonial stem cells. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2017;24(6):424-431
 34. Reda A, Hou M, Landreh L, Kjartansdóttir KR, Svechnikov K, Söder O. In vitro Spermatogenesis - Optimal Culture Conditions for Testicular Cell Survival, Germ Cell Differentiation, and Steroidogenesis in Rats *Front Endocrinol (Lausanne)* 2014; 26;5:21.
 35. Chang YF, Lee-Chang JS, Panneerdoss S, MacLean JA 2nd, Rao MK. Isolation of Sertoli, Leydig, and spermatogenic cells from the mouse testis. *Biotechniques* 2011;51(5):341-2, 344
 36. Lakpour MR, Aghajanzpour S, Koruji M, Shahverdi A, Sadighi-Gilani MA, Sabbaghian M. Isolation, Culture and Characterization of Human Sertoli Cells by Flow Cytometry: Development of Procedure. *Reprod Infertil* 2017;18(2):213-217
 37. Heidargholizadeh S, Aydos SE, Yukselten Y, Ozkavukcu S, Sunguroglu A, Aydos K. A differential cytokine expression profile before and after rFSH treatment in Sertoli cell cultures of men with nonobstructive azoospermia. *Andrologia* 2017;49(4)
 38. Alves-Lopes JP, Stukenborg JB. Testicular organoids: a new model to study the testicular microenvironment in vitro? *Hum Reprod Update*. 2017;1-16
 39. Baert Y, Rombaut C, Goossens E. Scaffold-Based and Scaffold-Free Testicular Organoids from Primary Human Testicular Cells. *Methods Mol Biol.* 2017;1-8
 40. Alves-Lopes JP, Söder O, Stukenborg JB. Testicular organoid generation by a novel in vitro three-layer gradient system. *Biomaterials.* 2017;130:76-89
 41. Pendergraft SS, Sadri-Ardekani H, Atala A, Bishop CE. Three-dimensional testicular organoid: a novel tool for the study of human spermatogenesis and gonadotoxicity in vitro. *Biol Reprod.* 2017; 1;96(3):720-732.
 42. Baert Y, De Kock J, Alves-Lopes JP, Söder O, Stukenborg JB, Goossens E. Primary Human Testicular Cells Self-Organize into Organoids with Testicular Properties. *Stem Cell Reports.* 2017; 10;8(1):30-38
 43. Tanaka A, Nagayoshi M, Takemoto Y, Tanaka I, Kusunoki H, Watanabe S. Fourteen babies born after round spermatid injection into human oocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 17;113(20)
 44. Ramasamy R, Bakircioğlu ME, Cengiz C, Karaca E, Scovell J, Jhangiani SN. Whole-exome sequencing identifies novel homozygous mutation in NPAS2 in family with nonobstructive azoospermia. *Fertil Steril* 2015;104(2):286-91