

## BÖLÜM 3

# ERKEK İNFERTİLİTESİ VE YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİNDE YENİ TRENDLER

Hakan ANIL<sup>1</sup>

### 1. GİRİŞ

İnfertilite cinsel aktif, kontraseptif bir yöntem kullanmayan bir çiftin 1 yıl içinde gebelik elde edememesi olarak tanımlanır (1). Erkek partnerin infertilitedeki rolü, son yıllarda artan sayıda araştırmaların konusu olmuştur. Kadın partner, tarihsel olarak infertilite değerlendirmesinin birincil odak noktasında iken yapılan son araştırmalarla erkek faktörlü infertilitenin erken tanınması ve tedavisinin önemi gittikçe önem kazanmaktadır (2). Çift infertilitesinin yaklaşık %20'si yalnızca erkeğe bağlı nedenlerden geliştiği dahası erkek faktörünün, infertil çiftlerin %50'ye varan bir bölümünde gebelik elde etmedeki zorluklara en azından kısmen katkıda bulunduğu inanılmaktadır (3).

Erkek infertilitesinde birçok etiyolojik neden bulunabilmekle beraber vakaların %30'unda herhangi bir etiyoloji saptanamaz ve bu durum idiyopatik erkek infertilitesi olarak adlandırılır (4). Neischlag ve arkadaşlarının yaptıkları geniş hasta serili çalışmada saptanabilen en yaygın sebebin varikosel olduğu bildirilmiştir (Tablo 1) (5). Erkek infertilitesinde başta varikosel olmak üzere birçok düzeltilebilir neden olmakla beraber, hastaların bir kısmında yardımcı üreme teknikleri son yıllarda artan başarı oranlarıyla önem kazanmıştır. Yardımcı üreme teknolojisi, gebelik oluşturmak amacıyla hem kadın oositlerinin hem de erkek spermelerinin veya embriyoların in vitro olarak işlenmesini içeren prosedürlerden oluşur. İlk olarak 1978'de in vitro fertilizasyonla ilk doğum gerçekleştirilmiştir (6). Bu gelişmeyle beraber günümüzde yardımcı üreme teknikleri infertil çiftlerin tedavisinde yaygın bir yer almıştır. 1987 ve 2015 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde yardımcı üreme teknikleri ile yaklaşık 1 milyon bebeğin doğduğu bildirilmiştir (7).

---

<sup>1</sup> Op. Dr., Adana Seyhan Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği dr.hakananil@gmail.com

## 2. İNFERTİL ERKEĞİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İnfertil erkeğin değerlendirilmesinde temel olarak iyi bir öykü, fizik muayene ve semen incelemesi rutin standart yaklaşımdır. Öyküde infertiliteye neden olabilecek geçirilmiş hastalıklar , kullanılan ilaçlar ve maruziyetler ( inmemiş testis, testis torsiyon öyküsü, geçirilmiş genitoüriner enfeksiyonlar, radyasyon maruziyeti, gonodotoksik ilaçlar) detaylı olarak sorgulanmalıdır. Fizik muayenede sekonder seks karakterleri, testis boyutları ölçümü, testislerin lokalizasyonu, testiste veya epididimde kitle varlığı, jinekomasti, varikosel varlığı değerlendirilmelidir. Avrupada yapılan bir çalışmada ortalama testis volümü  $20 \pm 5$  mL olarak bildirilmiştir. İnfertil erkeklerde ise testis volümünün  $18 \pm 5$  mL olduğu saptanmıştır. (8,9).

**Tablo 1. Erkek infertilitesi nedenleri ve sıklıkları**

Tanı	Yüzde
Bilinen infertilite nedenleri	42.6
İnmemiş testis	8.4
Varikosel	14.8
Sperm oto-antikoları	3.9
Testis tümörü	1.2
Diğer	5.0
İdiyopatik infertilite	30.0
Hipogonadizm	10.1
Genel sistemik hastalık	2.2
Malignansiye bağlı kriyoprezervasyon	7.8
Ereksiyon/ejekülasyon bozukluğu	2.4
Toplam	100

### 2.1 Semen Analizi

Günlük pratikte infertilite düşünülen her erkekte uygulanması gereken, sperm parametreleri hakkında geniş bilgiler veren semen analizi güncel üroloji pratiğinde geniş bir yer tutmaktadır. Önemli tedavi kararları çoğu zaman sperm parametreleri sonucuna göre verilmektedir. Buna zıt olarak semen analizi sonucu fertil ve infertil erkeği kesin olarak ayırt edememektedir (10). Dünya Sağlık Örgütü son olarak 2021 yılında semen parametrelerini revize etmiştir. Geçmiş yıllardaki ve güncel referans aralıkları Tablo 2’de özetlenmiştir. Semen analizinde ejakülatın mililitresinde bulunan sperm sayısının <15 milyon olması durumuna oligosper-

mi, ileri hareketli sperm sayısının <%32 oranından olmasına astenozoospermi, normal formun <%4 olmasına ise teratozoospermi tanımlaması yapılmıştır. Buna ek olarak ejakülatta bulunan sperm sayısının <5 milyon olması azospermi olarak adlandırılmıştır.

**Tablo 2. DSÖ 2021 yılı güncellenen semen analizi referans alt değerleri ve geçmiş değerlerle karşılaştırılması**

Parametre	2010 alt referans limiti (%95 güven aralığı)	2021 alt referans limiti (%95 güven aralığı)
Semen volümü	1.5 (1.4-1.7)	1.4 (1.3-1.5)
Total sperm sayısı (10 <sup>6</sup> /ejakülata)	39 (33-46)	39 (35-40)
Sperm konsantrasyonu (10 <sup>6</sup> /mL)	15 (12-16)	16 (15-18)
Total hareketlilik (%)	40 (38-42)	42 (40-43)
İleri hareketlilik (%)	32 (31-34)	30 (29-31)
Canlılık (canlı spermatozoa)	58 (55-63)	54 (50-56)
Sperm morfolojisi	4 (3.0-4.0)	4 (3.9-4.0)

## 2.2 Semen analizine ek olarak kullanılan tanı araçları

**2.2.1 Semen DNA fragmentasyon ölçümü:** Semen analizi tanımlayıcı bir değerlendirmedir ve, fertil veya infertil erkeklerin spermleri arasında ayırım yapamaya bilir. Bu nedenle infertilitesi olan erkeklerde sperm DNA hasarının oluşabileceği artık aşıkardır. DNA fragmentasyonu veya tek ve çift zincirli DNA kırıklarının birikmesi, spermın ortak bir özelliğidir ve sperm DNA fragmentasyon seviyesindeki bir artışın, doğal gebe kalma şansını azalttığı gösterilmiştir. Sperm DNA hasarının infertil çiftlerin klinik yönetimi üzerindeki etkisini kesin ve doğrudan test eden hiçbir çalışma olmamasına rağmen, sperm DNA hasarı infertil erkeklerde daha yaygındır ve erkek infertilitesinin yanı sıra yardımcı üreme tekniklerinden sonraki kötü sonuçların, bozulmuş embriyo gelişimi, düşük, tekrarlayan gebelik kaybı ve doğum kusurları dahil olmak üzere önemli bir katkısı olarak tanımlanmıştır. Sperm DNA hasarı, hormonal anomaliler, varikosel, kronik enfeksiyon ve yaşam tarzı faktörleri gibi çeşitli faktörler tarafından arttırılabilir (11-16).

Sperm DNA hasarını ölçmek için birkaç tahlil tarif edilmiştir. Sperm DNA bütünlüğünü değerlendirmek için mevcut yöntemlerin hala yardımcı üreme tekniklerinden elde edilen tedavi sonuçlarını güvenilir bir şekilde öngörmediği öne sürülmüştür ve bunların klinik kullanım için rutin olarak önerilip önerilemeyeceği konusunda tartışmalar vardır (15). Bunlardan, terminal deoksiniükleotidil

transferaz aracılı deoksiüridin trifosfat çentik ucu etiketlemesi ve alkalın kuyruklu yıldız testi DNA hasarını doğrudan ölçer. Tersine, sperm kromatin yapı tahlili ve sperm kromatik dağılım testi DNA parçalanma değerlendirmesi için dolaylı araçlardır. Sperm kromatin yapısı tahlili hala en çok çalışılan ve DNA hasarını tespit etmek için en yaygın kullanılan tekniklerden biridir.

**2.3 Hormon profili:** Testiküler yetmezlik veya primer hipogonadal hipogonadizmi olan erkeklerde yüksek FSH ve LH, düşük veya normal testesteron düzeyleri olabilir. Genel olarak, FSH seviyeleri spermatogonia sayısı ile negatif korelasyon gösterir (17). Spermatogonia olmadığı veya belirgin şekilde azaldığında, FSH seviyesi genellikle yükselir; spermatogonia sayısı normal olduğunda, ancak spermatozoid veya spermatozoid düzeyinde olgunlaşma durması varsa, FSH düzeyi genellikle normal aralıktadır (17). Bununla birlikte, TESE uygulanan hastalarda, histolojide matürasyon durması olan erkeklerde hem normal FSH hem de testis hacmi olabileceğinden, FSH seviyeleri spermatogenezin varlığını doğru bir şekilde öngöremez. Ayrıca, obstrüktif olmayan azospermisi (NOA) ve yüksek FSH seviyeleri olan erkekler, TESE veya mikrodiseksiyon TESE (mTESE) sırasında hala odak spermatogenez alanlarını barındırabilir (18,19).

**2.4 Genetik inceleme:** Androlojide çalışan tüm ürologlar, doğurganlık tedavisi arayan çiftlere doğru tavsiyelerde bulunabilmeleri için, en yaygın olarak infertilite ile ilişkili genetik anormallikleri anlamalıdır. Azoospermi vakalarında, düşük sperm sayısına sahip erkeklerde IVF, ICSI ve testislerden sperm ekstraksiyonu kullanılarak makul bir babalık şansı sunulabilir. Bununla birlikte, infertil erkeklerin spermleri, artan bir anöploidi oranı, yapısal kromozomal anormallikler ve DNA hasarı göstererek genetik anormalliklerin bir sonraki nesle geçme riskini taşır. Mevcut rutin klinik uygulama, periferik kan örneklerinden genomik DNA'nın taranmasına dayanmaktadır. Ancak, spermatozoiddeki (sperm anöploidi) kromozomal anomalilerin taranması da mümkündür ve seçilmiş vakalarda (örn. tekrarlayan düşükler) yapılabilir (20,21). İnfertil erkekte sperm sayısı <5milyon/mL olması durumunda genetik inceleme önerilmektedir. Yapılabilecek genetik incelemeler sex kromozom anomalileri (Klinefelter, 47XXY, 47XX), Y mikrodeseleksyonları (AZFa,b,c deleksyonları), otozomal anomaliler (kistik fibrozis, vas deferens agenezisi) olarak sıralanabilir.

**2.5 Görüntüleme Yöntemleri:** İnfertil erkeğin değerlendirilmesinde rutin önerilen bir görüntüleme yöntemi bulunmamakla beraber günlük pratikte en sık skrotal ultrasonografi kullanılmaktadır. Testis hacmini hidrosel, inguinal herni gibi Prader yönteminin uygun olmadığı durumlarda ölçmek için kullanılabilir. İnfertiliteye neden olabilecek testis tümörü, rete testis ve epididim invazyonu, vas deferens yokluğunu saptamada kullanılabilir. Her ne kadar varikosel teşhisinde

fizik muayene önde gelen tanı yöntemi ise de özellikle fizik muayenenin yetersiz kaldığı, ven çapının belirlenmesi ve tedavi sonrası reflü varlığını değerlendirmede skrotal doppler ultrason iyi bir görüntüleme aracıdır (22). Ayrıca seminal hacmi düşük, semen pH'sı asidik, obstruktif azospermi bulguları olan hastalarda transrektal ultrason önemli bir tanı aracıdır (23).

### **3. İNFERTİLİTEDE YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ VE YENİ GELİŞMELER**

Yardımcı üreme teknikleri, idiyopatik erkek infertilitesi veya etiyojinin belirlenmesi sonrası uygun tedaviye rağmen spontan gebelik sağlanamayan olgularda kullanılan prosedürlerdir. Son yıllarda gelişen teknoloji ile beraber kullanımı yaygınlaşmıştır. Hangi hastada hangi yöntemin kullanılacağı, etiyojik nedene göre farklılaşan tedavi yöntemleriyle klinisyenler için hasta bazlı tedavi sürecini yönetmek önem arzeder. Tarihsel süreçte intra-uterin inseminasyonla başlayan ve son yıllarda yeni gelişmeler barındıran tedavi yöntemlerini inceleyelim.

#### **3.1. İntra-uterin inseminasyon**

Bu yöntem bilinen en eski yöntem olmakla beraber erkekten alınan sperm kadın uterusuna bırakılarak döllenmenin gerçekleşmesi beklenir. İşlem kadın normal ovulasyon siklusu zamanı yapılabildiği gibi ovaryan stimüle edici ajanlarla da gerçekleştirilebilir. Stimüle edici yöntemin doğal yöntemle göre avantajı daha fazla sayıda folikül üreterek gebelik şansını artırmasıdır (24-26). Bu prosedürün uygulanabilmesi için normal sperm parametreleri, <40 yaş kadın, fallop tüplerinden birinin normal olması ve düzenli ovulasyon görülmesidir. Buna ek olarak işlem sonrası gebelik oranı %12, doğum oranı ise %8 olarak literatürde bildirilmiştir (27). Açıklanamayan infertilite, erkek faktör ilişkili infertilite ve hafif endometriozisi olan çiftlerde, intra-uterin inseminasyon önerilmemektedir.

#### **3.2. İn vitro fertilizasyon**

Kadın ovulasyon döngüsünün hiperstimülasyonu ve ovulasyon sırasında birçok oositin alınmasını içeren bir prosedürdür. Kadın ovulasyon döngüsü ultrason aracılığıyla yakın takip edilmeli ve folikül gelişimi izlenmelidir. Ovulasyondan önce ultrason yardımıyla oositler ince iğne ile dışarı alınır. Dışarı alınan oositler spermle birleştirilir. İki-üç gün kadar kültür ortamında inkübe edilip daha sonra transservikal olarak uterin alana yerleştirilir.

Transfer edilen embriyolardan yaklaşık %20-30 oranının bir gebelik oluştuğu bilinmektedir (27). NICE kılavuzu 2 yıllık korunmasız ilişkiye rağmen gebelik edemeyen çiftlerde bu yöntemi önermektedir (28).

### 3.3. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu

Bu yöntem spermın kadın yumurtalığına cam mikropipetler aracılığıyla doğrudan enjekte edilmesi işlemidir. İn vitro fertilizasyon (İVF) ve intra-uterin inseminasyondan farkı doğrudan fertilizasyonu sağlamasıdır. İVF ve İÜİ da osit ve sperm doğal yollarla döllenmektedir. Ayrıca intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu metafaz 2 safhasındaki mature oositlere uygulanmaktadır (29). Enjeksiyon için seçilen morfolojik olarak normal spermi hareketsiz hale getirmek ve almak için ince ve hassas bir cam mikropipet (enjeksiyon iğnesi) kullanılır. Tek bir sperm, kuyruğundan zona pellucida yoluyla oosit sitoplazmasına sokulan enjeksiyon iğnesine aspire edilir. Sperm, birinci polar cisimden yeterince uzaktaki bir sitoplazmik bölgede salınır. Bu işlem sırasında oosit bir cam mikropipet tarafından sabit tutulur. Bu teknikle oosit, enjekte edilen spermın morfolojisi ve/veya motilitesinden bağımsız olarak döllenebilir. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), yardımcı üremede kullanılan tekniklerin %70-80'ini oluşturan şu anda en yaygın kullanılan tekniktir (30).

İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonunda gebelik ve doğum oranları her bir aspirasyon için sırasıyla %26.2 ve %19 olarak bildirilmiştir. Kullanılan farklı spermle beraber başarılı fertilizasyon %70-80 lere kadar, gebelik oranları ise %45'e kadar yükselebilmektedir (27,30,31). Erkek ilişkili olmayan faktörlerde ICSI'nın İVF'ye üstün olmadığı saptanmıştır. Buna karşın açıklanamayan infertilitede ICSI'nın fertilizasyon oranları İVF'ye daha üstün olarak bildirilmiştir (32). Diğer bir tartışma konusu ise taze sperm ile donmuş spermın ICSI başarısını etkileyip etkilemeyeceğidir. Son olarak yapılan bir metanalizde spermın donmuş veya taze olmasının gebelik oranlarını etkilemediği vurgulanmıştır (33).

**Tablo 3. Erkek faktör ilişkili olan infertilitede en uygun fertilizasyon yöntemleri**

	Fertilizasyon metodu
<b>Erkek ilişkili faktörler</b>	
Azospermik erkekte elde edilen sperm	ICSI
İleri derecede oligo-asteno-teratospermi	ICSI önerilmektedir
Orta derece oligo-asteno-teratospermi	ICSI ve İVF eşit etkinlik
İzole teratozoospermi	ICSI ve İVF eşit etkinlik
Kesinleştirilmiş astenozoospermi	ICSI
Globozoospermi	ICSI
Anti-sperm antikor	ICSI ve İVF eşit etkinlik
Sperm DNA fragmantasyonu	ICSI

### **3.4. Morfolojik olarak seçilmiş sperm intrasitoplazmik enjeksiyonu**

Morfolojik olarak seçilmiş sperm intrasitoplazmik enjeksiyonu (IMSI) ilk olarak 2002 yılında ICSI'nin modifikasyonu olarak literatüre sunuldu (34). Bu metodun amacı spermleri morfolojik olarak inceleyerek en iyi fonksiyona sahip sperm elde etmek ve daha iyi fertilizasyon oranları yaratmaktır. Bartov ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ICSI başarısızlığında IMSI metoduyla %60 gebelik oranı elde ettiklerini bildirdiler (35).

### **3.5. Fizyolojik ICSI tekniği: sperm membran olgunluğuna bağlı bir seçim**

Kadın oositleri hyalüronik asitle çevrelenmiştir ve bunlar doğal bir sensör görevi görmektedir. Sadece olgun canlı sperm hücresi bu membranlardan geçip, oositi dölleyebilir. Bu spermler normal şekilli olmalı, düşük DNA fragmantasyonu ve düşük kromozomal anöploidi oranına sahip olmalıdır (36). Bu bağlamda, hyalüronik asit bağlanmasının İVF sonuçlarını etkileyip etkilemediğini bir meta-analizle değerlendirilmiştir. Yapılan bu meta-analizde fizyolojik ICSI tekniğinin geleneksel ICSI'ya gebelik ve canlı doğum oranlarında bir üstünlüğü olmadığını bildirilmiştir. Ek olarak fizyolojik ICSI yönteminde daha kalite embriyo elde edildiği saptanmıştır (36).

### **3.6. Manyetik aktif hücre sıralama**

Manyetik yöntemle sperm elde edilmesi ileri düzey bir sperm seçim yöntemidir. Spermler arasından apoptozis bulgusu en az olan sperm elde edilir (37). Yoğunluk gradyanlı santrifüjlemeden sonramanyetik aktif hücre sıralama kullanımının, sperm morfolojisini iyileştirdiği ve DNA fragmantasyonunu ve apoptotik belirteçleri azalttığı, ancak seçilen sperm hareketliliğini azalttığı bulunmuştur(37-38). Manyetik aktif hücre sıralama hastalarında kontrol grubuna göre biraz daha yüksek bir gebelik oranı (Rölatif risk: 1.5, %95 Güven aralığı: 1.14-1.98) gözlenmesine rağmen, manyetik aktive hücre sıralama, yoğunluk gradyanlı santrifüjlemeyle karşılaştırıldığında ICSI sonuçlarını iyileştirmede başarısız bulunmuştur (39).

## **4. SONUÇ**

İnfertilite tedavisinde erkek ilişkili faktörler ve bunların tedavileri devam eden araştırma alanıdır. Günümüzde sık olarak in vitro fertilizasyon ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu yöntemleri kullanılmaktadır. Bu tekniklere ek olarak manyetik aktif hücre sıralama, fizyolojik ICSI ve morfolojik olarak seçilmiş sperm intrasitoplazmik enjeksiyonu yöntemleri gelişmeye açık ve umut vaat eden prosedürlerdir.

## KAYNAKLAR

1. WHO, WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. 2000, Cambridge University Press: Cambridge.
2. Petok W. Infertility counseling (or the lack thereof) of the forgotten male partner. *Fertil Steril* 2015;104(2):260–6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.04.040.
3. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015 Mar;103(3):e18-25. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.12.103.
4. Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, et al. Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility. *World J Mens Health*, 2019. 37: 296. doi: 10.5534/wjmh.190055.
5. Andrology, In: Nieschlag E, Behre HM and Nieschlag S (eds). Male reproductive health and dysfunction, in Male reproductive health and dysfunction. 2010, Springer Verlag: Berlin
6. Fishel S. First in vitro fertilization baby - this is how it happened. *Fertil Steril* 2018;110(1):5–11. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.03.008.
7. CDC/SART. 2015 assisted reproductive technologyfertility clinic success rates report. Atlanta (GA):US Department of Health and Human Services;2017.
8. Jorgensen, N., Carlsen E, Neramoen I, et al. East-West gradient in semen quality in the Nordic-Baltic area: a study of men from the general population in Denmark, Norway, Estonia and Finland. *Hum Reprod*, 2002. 17: 2199. doi: 10.1093/humrep/17.8.2199
9. Jensen, T.K, Jorgensen N, Puban M, et al. Association of in utero exposure to maternal smoking with reduced semen quality and testis size in adulthood: a cross-sectional study of 1,770 young men from the general population in five European countries. *Am J Epidemiol*, 2004. 159: 49. Doi: 10.1093/aje/kwh002.
10. Boeri, L, Belladelli F, Capogrosso P, et al. Normal sperm parameters per se do not reliably account for fertility: A case–control study in the real-life setting. *Andrologia*, 2020. n/a: e13861. doi: 10.1111/and.13861.
11. Yifu, P, Shaoming L, Yujin G, et al. Sperm DNA fragmentation index with unexplained recurrent spontaneous abortion: A systematic review and meta-analysis. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2020: 101740. doi: 10.1016/j.jogoh.2020.101740.
12. McQueen, D.B, Zhang J, Robins JC. Sperm. DNA fragmentation and recurrent pregnancy loss: a systematic review and metaanalysis. *Fertil Steril*, 2019. 112: 54. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.03.003
13. Grimes, D.A, Lopez L. “Oligozoospermia,” “azoospermia,” and other semen-analysis terminology: the need for better science. *Fertil Steril*, 2007. 88: 1491. doi:10.1016/j.fertnstert.2007.04.013.
14. Simon, L, Emery B, Carell D. Sperm DNA Fragmentation: Consequences for Reproduction. *Adv Exp Med Biol*, 2019. 1166: 87. doi:10.1007/978-3-030-21664-1\_6
15. Nicopoulos, J, Vicens-Morton A, Lewis SEM, et al. Novel use of COMET parameters of sperm DNA damage may increase its utility to diagnose male infertility and predict live births following both IVF and ICSI. *Hum Reprod*, 2019. doi: 10.1093/humrep/dez151.
16. Tan, J, Taskin O, Albert A, et al. Association between sperm DNA fragmentation and idiopathic recurrent pregnancy loss: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, 2019. 38: 951. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.12.029.
17. Martin-du-Pan, R.C, Bischof P. Increased follicle stimulating hormone in infertile men. Is increased plasma FSH always due to damaged germinal epithelium? *Hum Reprod*, 1995. 10: 1940. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136211.
18. Ramasamy, R., et al. High serum FSH levels in men with nonobstructive azoospermia does not affect success of microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril*, 2009. 92: 590.
19. Zeadna, A, Lin K, Gosden LV, et al. Prediction of sperm extraction in non-obstructive azoospermia patients: a machine-learning perspective. *Hum Reprod*, 2020. 35: 1505. doi: 10.1016/j.



- fertnstert.2008.07.1703.
20. Carrell, D.T. The clinical implementation of sperm chromosome aneuploidy testing: pitfalls and promises. *J Androl*, 2008. 29: 124.
  21. Kohn, T.P, Kohn JR, Darilek S, et al. Genetic counseling for men with recurrent pregnancy loss or recurrent implantation failure due to abnormal sperm chromosomal aneuploidy. *J Assist Reprod Genet*, 2016. 33: 571. doi: 10.1007/s10815-016-0702-8.
  22. Lotti, F, Maggi M. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health. *Hum Reprod Update*, 2015. 21: 56. doi: 10.1093/humupd/dmu042
  23. McQuaid, JW, Tanrikut C. Ejaculatory duct obstruction: current diagnosis and treatment. *Curr Urol Rep*, 2013. 14: 291. doi: 10.1007/s11934-013-0340-y.
  24. Kandavel, V, Cheong Y. Does intra-uterine insemination have a place in modern ART practice? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2018. 53: 3. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.08.003.
  25. Veltman-Verhulst, S.M., et al. Intra-uterine insemination for unexplained subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016. 2: Cd001838.
  26. Ombelet, W, Dhont N, Thijssen A, et al. Semen quality and prediction of IUI success in male subfertility: a systematic review. *Reprod Biomed Online*, 2014. 28: 300. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.10.023.
  27. Adamson, G.D, de Mouzon J, Chambers GM, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology: world report on assisted reproductive technology, 2011. *Fertil Steril*, 2018. 110: 1067. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.06.039
  28. NICE. Fertility Problems: Assessment and Treatment Guidelines.
  29. Devroey, P, et al. A review of ten years experience of ICSI. *Hum Reprod Update*, 2004. 10: 19.
  30. Rubino, P, Van Steirteghem A. The ICSI procedure from past to future: a systematic review of the more controversial aspects. *Hum Reprod Update*, 2016. 22: 194. doi: 10.1093/humupd/dmh004.
  31. Palermo, G.D, O'Neill CL, Chow S, et al. Intracytoplasmic sperm injection: state of the art in humans. *Reproduction*, 2017. 154: F93. doi: 10.1530/REP-17-0374.
  32. Esteves, S.C, Roque M, Bedoschi G, et al. Intracytoplasmic sperm injection for male infertility and consequences for offspring. *Nat Rev Urol*, 2018. 15: 535. doi: 10.1038/s41585-018-0051-8.
  33. Ohlander, S, Hotaling J, Kirshenbaum E, et al. Impact of fresh versus cryopreserved testicular sperm upon intracytoplasmic sperm injection pregnancy outcomes in men with azoospermia due to spermatogenic dysfunction: a meta-analysis. *Fertil Steril*, 2014. 101: 344. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.10.012.
  34. Bartoov, B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Real-time fine morphology of motile human sperm cells is associated with IVF-ICSI outcome. *J Androl*. 2002 Jan-Feb;23(1):1-8. doi: 10.1002/j.1939-4640.2002.tb02595.x.
  35. Bartoov, B, Berkovitz A, Eltes F, et al. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril*, 2003. 80: 1413. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.05.016.
  36. Beck-Fruchter, R, Shalev E, Weiss A. Clinical benefit using sperm hyaluronic acid binding technique in ICSI cycles: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*, 2016. 32: 286. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.12.001.
  37. Rappa, K.L, Rodriguez HF, Hakkarainen GC, et al. Sperm processing for advanced reproductive technologies: Where are we today? *Biotechnol Adv*, 2016. 34: 578. doi: 10.1016/j.biotechadv.2016.01.007.
  38. Said, T.M, Land J. Effects of advanced selection methods on sperm quality and ART outcome: a systematic review. *Hum Reprod Update*, 2011. 17: 719. doi: 10.1093/humupd/dmr032
  39. Gil, M, Sar-Shalom V, Melendez Sivira Y, et al. Sperm selection using magnetic activated cell sorting (MACS) in assisted reproduction: a systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*, 2013. 30: 479. doi: 10.1007/s10815-013-9962-8.