

Klinefelter Sendromu ve Fertilite

Klinefelter Syndrome and Fertility

✉ Nagihan BEŞTEPE,^a
 ✉ Didem ÖZDEMİR,^b
 ✉ Bekir ÇAKIR^b

^aEndokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
^bEndokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları AD, Ankara Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara

Received: 12.10.2017
 Received in revised form: 31.01.2018
 Accepted: 01.02.2018
 Available online: 29.03.2018

Correspondence:
 Nagihan BEŞTEPE
 Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Kliniği, Ankara, TÜRKİYE/TURKEY
 nagihanbestepe@gmail.com

ÖZET Klinefelter sendromu, erkeklerde en sık görülen seks kromozom bozukluğudur. Prevalansı yaklaşık 500-600 erkek doğumda birdir ve erkek infertilitesinin en sık genetik nedenlerindedir. Klinefelter sendromunun tipik klinik özellikleri; önkoid görünüm ve uzun boy, jinekomasti, küçük testisler, azospermi ve infertilitedir. Hastalar sıklıkla infertilite nedeni ile yapılan incelemeler sırasında tanı almaktadırlar. Erişkin dönemindeki hastalarda laboratuvar ve klinik bulgular, hipergonadotropik hipogonadizm ile uyumludur. Serum testosteron seviyeleri her zaman çok düşük olmamasına rağmen serum folikül stimüle edici hormon seviyesinin normalin üzerinde olması önemli bir laboratuvar bulgusudur. Kesin tanı periferik kandaki lenfositlerden yapılan kromozom analizi ile konmaktadır. 47,XXY kromozom kuruluşu hastaların %80'inde mevcut iken, 47,XXY dışı kromozom anomalilerinin tüm hastalar içindeki oranı %20 kadardır. Klinefelter sendromunda artmış morbidite ve mortalite nedeni ile bu hastaların erken tanısı önemlidir. Azospermik erkeklerin %11'inde, infertilite nedeni ile başvuranların da %4'ünde Klinefelter sendromu saptanmaktadır. Klinefelter sendromlu hastaların çoğunluğunda semen analizinde tipik bulgu azospermidir. Genel kanı olarak Klinefelter sendromlu hastalar infertil olarak kabul edilse de, son dönemde uygulanan bazı yardımcı üreme teknikleri ile fertilizasyon sağlanabilmektedir. Son yıllarda geliştirilen sperm kriyoprezervasyon, testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE), mikro-TESE ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu gibi yöntemlerle bu hastalar da çocuk sahibi olabilmektedir. Spermatogonial kök hücrelerin dondurulması veya testiküler doku saklanması ise henüz deneysel tedavilerdir. Bu çalışmada, Klinefelter sendromunun klinik özellikleri, tedavisi ve fertilite yöntemlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Klinefelter sendromu; hipogonadizm; fertilite

ABSTRACT Klinefelter syndrome is the most frequent sex chromosomal disorder in males. With an estimated prevalence of about 1 in 500-600 newborn boys, it is among the most frequent genetic causes of male infertility. Typical clinical features of Klinefelter syndrome are eunuchoid body proportions and tall stature, gynecomastia, small testicles, azospermia and infertility. Patients usually diagnosed while they are evaluated for infertility. The laboratory and clinical findings of adults patients are complied with hypergonadotropic hypogonadism. Even if serum testosterone levels are not always markedly low, elevated serum follicle stimulating hormone is an important laboratory finding. Definitive diagnosis is made by karyotype analysis of peripheral blood lymphocytes. While 47,XXY chromosome structure is detected in 80% of the patients, 20% of the patients have another numerical chromosomal abnormality. Due to increased morbidity and mortality, early diagnoses of Klinefelter syndrome is critical. Klinefelter syndrome is determined in 11% of azospermic men and 4% of infertile men. Typical finding in semen analysis of most patients with Klinefelter syndrome is azospermia. In general, patients with Klinefelter syndrome are accepted as infertile, however, assisted reproductive techniques may provide fertilization. With the techniques developed in recent years such as sperm cryopreservation, testicular sperm extraction (TESE), mikro-TESE and intracytoplasmic sperm injection, fertility was achieved in these patients. Cryopreservation of spermatogonial stem cells or testicular tissue is still experimental methods. In this review, we investigated clinical features, treatment and fertility options in patients with Klinefelter syndrome.

Keywords: Klinefelter syndrome; hypogonadism; fertility

Klinefelter sendromu, bir veya daha fazla ekstra X kromozomunun bulunması ile karakterize bir seks kromozom anormallığıdır. İlk kez 1942 yılında Harry F. Klinefelter tarafından jinekomasti, küçük testisler, spermatogenez yokluğu, normal veya orta derecede azalmış Leydig hücre fonksiyonları ve yüksek folikül stimüle edici hormon (FSH) salınımı olan dokuz erkekte tanımlanmıştır.¹ Bu sendroma neden olan karyotip ise 1959 yılında Jacobs tarafından belirlenmiştir.² Hastaların %80'inde karyotip 47,XXY iken %20 hastada diğer kromozom anöploidileri (örneğin; 48,XXXYY, 48,XXYY, 49,XXXXY), 46,XY/47,XXY mozaizizm veya yapısal olarak anormal X kromozomu bulunabilmektedir. Kromozom anormallığı germ hücre gelişimi sırasında miyotik bölünme döneminde veya erken embriyonik mitotik bölünme döneminde ayrılamama nedeni ile oluşmaktadır. Fazladan X kromozomu %40-60 hastada babadan, %40-60 hastada anneden gelmektedir. X kromozomu arttıkça normal fenotipten sapmanın daha fazla olduğu, mozaizizm olan hastaların ise daha az etkilendiği düşünülmektedir. Prevalansı 500-600 erkek doğumda birdir ve erkek infertilitesinin en sık genetik nedenlerindedir.^{3,4}

KLİNİK

Fenotip değişken olmakla birlikte; genel olarak primer testiküler yetmezlik, azalmış testis hacmi, önkoid görünüm ve uzun boy ile karakterizedir. Klinefelter sendromlu hastaların %95'inde infertilite, küçük testisler ve azospermi mevcuttur. Pubik kıllanma ve yüzde kıllanma azalmıştır; abdominal obezite, jinekomasti, libidoda azalma, kas kuvvetinde azalma ve varis görülmektedir. Bu hastalarda metabolik sendrom, Tip 2 diyabet, trunkal obezite, tromboembolik hastalık, osteopeni ve osteoporoz riski de normal popülasyona göre artmıştır. Ayrıca, hastaların yarısından fazlasında mitral kapak prolapsusu görülmektedir (Tablo 1).^{3,5,6}

Klinefelter sendromu olan bebekler doğumda normal görünmektedir; fakat çocukluk döneminde gelişme geriliği, davranış sorunları ve öğrenme güçlükleri yaşayabilmektedirler. Özellikle dil, problem çözme, planlama, konsept oluşturma, inhibitör işlemler, yanıt verme hızı gibi durumlar etkilenmiştir.

TABLO 1: Erişkin Klinefelter sendromu hastalarında görülen bulgular ve görülme oranları.

Bulgu	Sıklık (%)
Küçük testisler (<4-6 mL)	> 95
İnfertilite	> 99
Azospermi	> 95
Artmış gonadotropin seviyeleri	> 95
Azalmış testosteron düzeyi	63-85
Azalmış fasyal kıllanma	60-80
Azalmış pubik kıllanma	30-40
Abdominal obezite	50
Jinekomasti	38-75
Variköz venler	40
Libidoda azalma	70
Kas gücünde azalma	70
Metabolik sendrom	46
Tip 2 diyabet	10-39
Osteopeni	5-40
Osteoporoz	10
Mitral valv prolapsusu	< 55

Kognitif fonksiyonlardaki değişikliklerin nedeni net olarak bilinmese de dolaylı olarak hipogonadizme bağlı olabileceği veya doğrudan kromozom anormallığı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.⁷⁻⁹

Erken bebeklik döneminde Klinefelter sendromlu hastaların büyümesi sağlıklı bebeklerle benzerdir. Üç yaşından itibaren büyüme hızı belirgin şekilde artmakta, özellikle yaş aralığı beş-sekiz yıl olanlarda boy uzamasında hızlanma görülmektedir ve erişkin boyları normalden uzun saptanmaktadır. Kol ve özellikle bacak boyu uzundur.¹⁰ Boy uzunluğunun nedeni üzerinde farkı hipotezler geliştirilmekle birlikte, asıl olarak cinsiyet kromozomları üzerinde "pseudoautosomal region 1" bölgesinde lokalize *SHOX* genine bağlı olduğu düşünülmektedir.¹¹ *SHOX* geni, X inaktivasyonundan kaçan bir genidir ve seks kromozom sayısı arttıkça büyümenin olumlu yönde etkilendiği, azaldıkça ise Turner sendromunda olduğu gibi boy kısalığına neden olduğu saptanmıştır.¹²

Klinefelter sendromunda meme kanseri riski artmıştır. Bunun tam nedeni bilinmese de uzun süreli jinekomasti, genetik eğilim, artmış östrojen/testosteron oranları, obezite ve fizik inaktivite,

ekzojen androjen kullanımı suçlanan faktörler arasında yer almaktadır.¹³ Bu hastalarda ayrıca, mediastinal tümör riski, anemi, hipotiroidi, kardiyovasküler, pulmoner, gastrointestinal, romatolojik, vasküler hastalıklar ve otoimmün hastalıkların arttığına dair veriler mevcuttur.¹⁴⁻¹⁸

Klinefelter sendromlu hastalarda mortalite riskinin 1,4-1,5 kat arasında arttığı, aynı yaş grubuna göre yaşam süresinin enfeksiyon, maligniteler, nörolojik, kardiyovasküler ve pulmoner nedenlerle ortalama 2,1 yıl daha düşük olduğu gösterilmiştir.^{13,19}

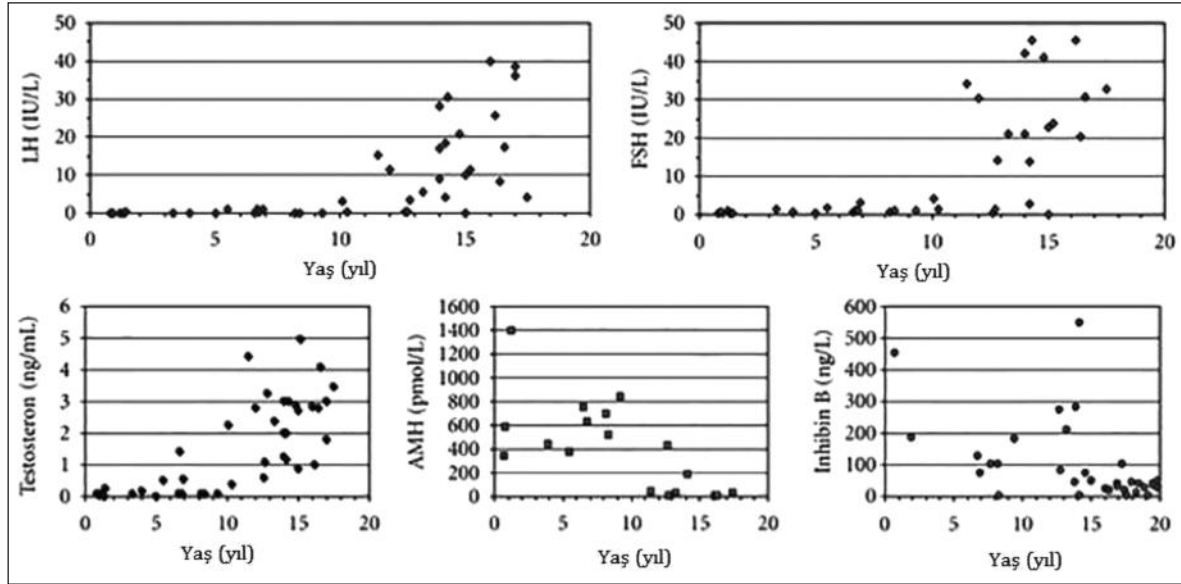
GELİŞİM VE TANI

Klinefelter sendromlu bebekler doğumda fenotipik olarak normal olduklarından, bu dönemde çok nadir tanı alabilmektedirler ve sadece kriptorşidizm varlığında şüphelenilebilmektedir. Çocukluk döneminde fazla büyüme ve davranış problemleri, konuşma bozuklukları, bilişsel gelişimde gerilik gibi nedenlerle araştırıldıklarında tanı alabilmektedirler. Hastalar, peripubertal dönemde hastalar gecikmiş veya yavaş bir pubertal gelişim, jinekomasti, küçük testisler ile başvurabilmektedir. Ne yazık ki hastaların önemli bir kısmı erişkin dönemde infertilite veya hipogonadizm araştırması sırasında tanı almaktadır ve %75 hastanın da hiç tanı almadığı düşünülmektedir.⁴

Klinefelter sendromlu bebeklerde, yaşamın ilk yılında testosteron seviyelerinin normal bebeklerle benzer olduğunu gösteren çalışmaların yanında düşük olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur.^{20,21} Benzer şekilde, FSH ve luteinize edici hormon (LH) seviyelerinde değişiklik saptanmayan veya yüksek FSH, LH bildiren çalışmalar da bulunmaktadır.^{22,23} Bu çalışmalar değerlendirildiğinde, Klinefelter sendromlu bebeklerde germ hücrelerdeki dejenerasyonun fetal dönemde başladığı, fakat hipoandrojeneminin bebeklik döneminde belirgin olmadığı söylenebilmektedir. Çocukluk döneminde germ hücre dejenerasyonu ilerlemekte ve puberte ve adölesan dönemde hızlanmaktadır. Klinefelter sendromlu bebeklerin ve çocukların testis volümleri normalden küçüktür, puberte başlangıcında testiküler hacimde bir miktar artış olsa da zamanla tekrar küçülmektedir.

Klinefelter sendromlu hastalarda pubertal büyüme zamanlaması ve prepubertal dönemde serum testosteron, FSH, LH ve inhibin B seviyeleri sağlıklı çocuklarla benzer saptanmaktadır.^{24,25} Bu dönemde gonadotropin salgılatıcı hormon [gonadotropin-releasing hormone (GnRH)]'a yanıtı normal bulunmaktadır.^{26,27} Puberte sürecinde başlangıçta beklenen testosteron yüksekliği görülmekte, fakat daha sonra plato yaparak puberte boyunca düşük-normal aralıkta kalmaktadır. Bu testosteron seviyelerinin Klinefelter sendromlu çocuklarda normal puberte başlangıcı ve ilerlemesini ve sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişimini sağladığı düşünülmektedir. Leydig hücrelerden salgılanan ve leydig hücre disfonksiyonu için sensitiv olan insülin benzeri faktör 3 [insulin-like factor 3 (INSL3)] sağlıklı çocuklarda puberte döneminde belirgin şekilde artmaktadır.²⁸⁻³⁰ Klinefelter sendromlu çocuklarda ise başlangıçta INSL3 yine yükselse de puberte ortalarından itibaren düşmeye başlamaktadır.³¹ Serum inhibin B seviyeleri prepubertal dönemde Sertoli hücre fonksiyonlarını yansıtmakta ve normalde puberte başlangıcında yükselerek erişkin seviyelerine ulaşmaktadır. Klinefelter sendromlu hastalarda ise puberte başlangıcında inhibin B seviyeleri önce yükselmekte, fakat daha sonra hızlı bir şekilde düşmektedir.^{32,33} Puberte ortalarından itibaren (13 yaş civarı) Klinefelter sendromunda FSH ve LH değerleri hipergonadotropik seviyelere yükselmekte, inhibin B ve antimülleriyan hormon azalmakta, testosteron ve INSL3 çok düşük seviyelere inmektedir. GnRH'ye gonadotropin yanıtı normalden fazladır.²⁵⁻²⁷ Özet olarak, Klinefelter sendromlu hastalarda başlangıçta puberteyi başlatacak ve devam ettirecek yeterli testosteron seviyeleri mevcuttur, fakat puberte ortalarından itibaren testosteron eksikliği belirginleşmektedir. Klinefelter sendromunda kronolojik yaş ile ilişkili hormon seviyeleri Şekil 1'de görülmektedir.

Histomorfometrik ve immünohistokimyasal analizler Klinefelter sendromlu çocukların çoğunluğunda, erken adölesan dönemde testislerde germ hücreleri olduğunu göstermiştir. Fakat spermatogonia sayısı oldukça azalmıştır ve pubertenin başlangıcı ile birlikte bu azalma hızlanmaktadır.^{32,34}



ŞEKİL 1: Klinefelter sendromunda kronolojik yaş ile ilişkili hormon seviyeleri.
LH: Lüteinize edici hormon; FSH: Folikül stimüle edici hormon; AMH: Antimüllerian hormon.

Germ hücre diferansiyasyonu, spermatogonium veya erken primer spermatozoid döneminde kalmakta, spermatogonia miyoza uğrayamamakta ve puberte başlangıcında apoptoza uğramaktadır. İmmatür Sertoli hücreleri, puberte döneminde erişkin matür hücrelere dönüşmemektedir. Yaşla birlikte peritübüler bağ doku ve interstisyumda hiyalinizasyon artmaktadır. On iki-on dört yaşlarında, testislerde dev hiperplastik Leydig hücreleri görülmektedir. Testiküler dejenerasyon pubertenin başlangıcında hızlanmaktadır.³⁵

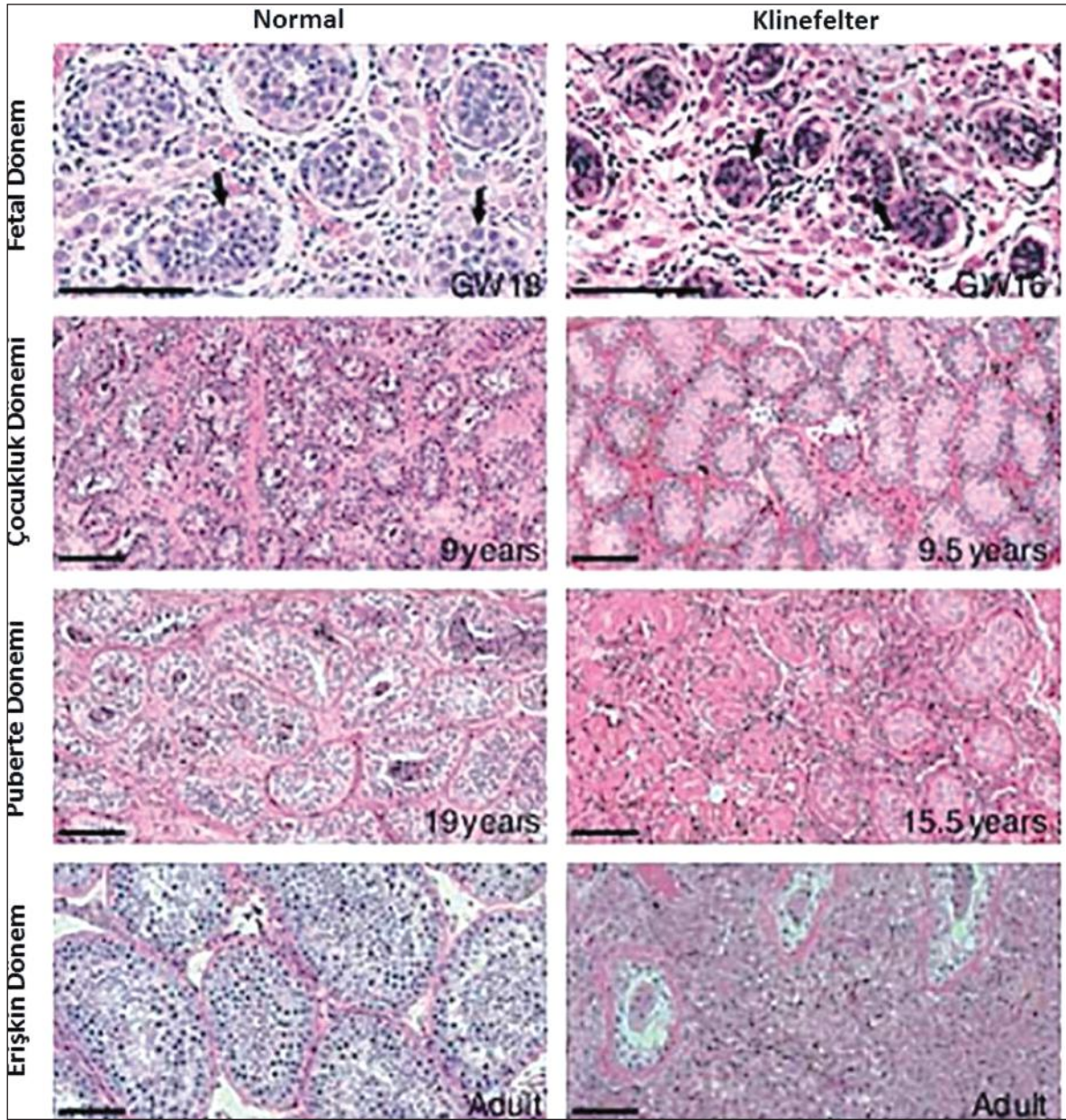
Erişkin döneminde laboratuvar ve klinik bulgular hipergonadotropik hipogonadizm ile uyumludur. FSH'deki yükseklik belirgin olmak üzere hem FSH hem de LH yüksektir. %65-85 hastada serum testosteron normalin altında iken, az sayıda hastada normal seviyelerde bulunabilmektedir.^{3,5} Serum inhibin B, hastaların çoğunda saptamayacak düzeydedir ve INSL3 normalin altında bulunmaktadırlar.^{28,33} Erişkin dönemde seminifer tübüllerde belirgin fibrozis ve hiyalinizasyon gelişmiştir, spermatogenez görülmemektedir, Leydig hücrelerinde ve interstisyumda hiperplazi bulunmaktadır (Şekil 2). Testisler belirgin şekilde küçülmüştür (normal volüm 12-30 mL). Bir çalışmada, ortalama testis volümü 3 mL olarak belirlenmiştir ki bu sağlıklı bireylerde 22 mL

bulunmuştur. Bu çalışmadaki kronolojik yaş ile ilişkili testis volüm grafikleri Şekil 3'te görülmektedir.³⁶

Klinefelter sendromlu hastalarda, tahmin edilen puberte başlangıcından önce başlayarak her altı ayda serum FSH, LH, testosteron, estradiol, prolaktin, inhibin B, insülin benzeri büyüme faktörü-1 ve kortizol ölçümü; yılda bir tiroid ve lipid profilleri değerlendirilmesi önerilmektedir.³⁷

TEDAVİ

Klinefelter sendromlu hastalarda semptomları önlemek ve androjen eksikliğinin sonuçlarından kaçınmak için, hayat boyu testosteron yerine koyma tedavisi başlanmalıdır.^{3,5} Bu tedavi, puberte döneminin erken-orta dönemlerinde veya semptomatik hipogonadizm ortaya çıktığında başlanabilmektedir. Tedavi ile kas gücü, libido, kemik mineral yoğunluğu ve kıllanma artmakta; duygudurum ve davranış üzerinde pozitif etki görülmekte, yorgunluk azalmakta, kognitif fonksiyonlarda ve yaşam kalitesinde düzelmeye görülmektedir. Fakat testosteron tedavisinin fertilité üzerine etkisi bulunmamaktadır, hatta spermatogonial diferansiyasyon basamağında spermatogenezini bloke ettiği öne sürülmektedir. Klinefelter sendromlu hastalarda, kısmi androjen direnci nedeni ile daha yüksek doz

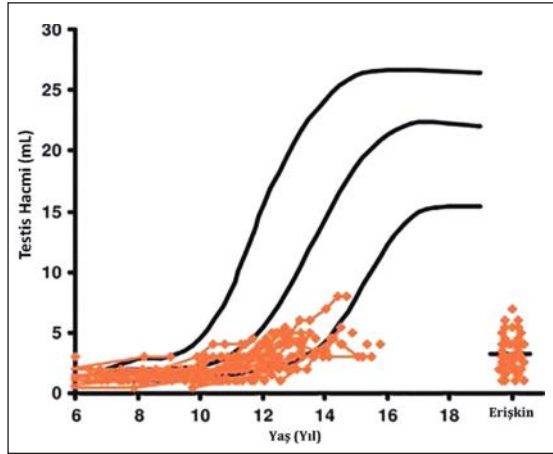


ŞEKİL 2: Farklı yaşam dönemlerinde testiküler dokunun mikroskopik görünümü. Solda normal testiküler doku ve sağda Klinefelter sendromunda testis mikroskopisi görülmektedir. Fetal dönemden puberteye kadar testiküler yapı benzer, prepubertal dönemde Klinefelter sendromunda germ hücre sayısı oldukça azalmış, puberte döneminde ve sonrasında gross morfolojik değişiklikler, seminifer tübülde yaygın dejenerasyon ve hiyalinizasyon görülüyor. Erişkin dönemde biyopsi Leydig hücre kümelerinden oluşmaktadır. Oklar gonositleri işaret etmektedir.³⁶

testosteron tedavisi gerekebilmektedir. Bu direncin nedenleri olarak; artmış adipoz doku, testosteronun estradiole dönüşümünün artmasına neden olan aromataz CYP19'da artma ve androjen reseptörlerinin sitoplazmadan nükleusa transportunda azalma öne sürülmüştür.

Testosteron enjeksiyon, topikal veya oral yollarla verilebilmektedir. Klinefelter sendromlu has-

talarda, özellikle başlangıçta hem FSH ve LH'de belirgin süpresyon yapması hem de adölesanlar için ağırlı ve kullanımı zor olabileceğinden enjeksiyonlar tercih edilmemektedir. Preadölesanlarda 1,25 g jel/gün başlanarak, serum testosteron seviyeleri ve puberte gelişimine göre 6-12 ay sonra artırılması önerilmektedir.³⁸ Pubik ve aksiller kıllanma, vücut kokusu, penis boyutunda artma, noktürnal ereksi-



ŞEKİL 3: Testosteron tedavisi almamış 79 hastanın kronolojik yaş ve testis boyutlarının (palpasyon ile) longitudinal ölçümü. Siyah çizgiler sağlıklı erkek çocuklardaki ortalama ± 2 SS göstermektedir (ref 36). Not: Şekil 2 ve Şekil 3 kullanımı için yazılı olarak onay alınmıştır.³⁶

yonlar ve akne bu süreçte puberte gelişimi için takip edilebilmektedir. Adölesanlarda 2,5 mg/gün jel olarak başlanabilmektedir. Tedavide hedef, serum testosteron seviyelerini normalin üst sınırına yakın tutmaktır. Tedavi başladıktan 6 hafta sonra, daha sonra da 6 ayda bir puberte ve klinik yanıtı göre dozun ayarlanması gerekmektedir.

Klinefelter sendromlu hastalarda, östrojen seviyelerinde ve adipozitede artma nedeni ile ekzojen testosterona alternatif olarak aromataz inhibitörleri kullanımı gündeme gelmiştir. Jinekomasti veya santral obezitesi olan maksimum doz testosteron tedavisine yanıtız adölesanlarda 2 yıl 1 mg/gün anastrozolun testosteron/östrojen oranının artmasını sağladığı gösterilmiştir.³⁹ Anastrozolun intratestiküler testosteron, testosteron yapımı ve spermatogenez üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir. Ayrıca kemik sağlığı üzerinde olumlu etkileri bulunmaktadır ve testosteronun hipotalamik-pitüiter aksın baskılayıcı etkisini elimine etmektedir.⁴⁰ Bununla birlikte, anastrozolun bu hastalarda kullanımı ile ilgili doz ve sürenin ne olması gerektiği konusunda veriler yetersizdir.

FERTİLİTE

Azospemik erkeklerin %11'inde, infertilite nedeni ile başvuranların da %4'ünde Klinefelter sendromu saptanmaktadır.⁴¹ Klinefelter sendromu olan has-

talarda fertilité sağlanamayacağı kanısı yeni geliştirilen ve geliştirilmekte olan yöntemlerle değişmiştir. Bu hastaların çocuk sahibi olmaları için etkinliği kanıtlanmış veya henüz yeterli kanıt bulunmayan farklı yöntemler bulunmaktadır (Tablo 2).

Klinefelter sendromlu hastaların çoğunluğunun semen analizinde tipik bulgu azospermidir. Buna karşın, ejakulatta hareketli sperm saptanan hastalar da bulunmaktadır. Nadir olmakla birlikte spontan gebelikler bildirilmiştir.^{42,43} Klinefelter sendromlu 131 hastanın alındığı bir çalışmada, %8,4 hastada spermatozoa saptanmıştır.³ Mozaik Klinefelter sendromunda, ejakulatta sperm saptanma ihtimali klasik Klinefelter sendromuna göre daha yüksek bulunmuştur. Klinefelter sendromlu hastalarda az sayıda spermatogonia spermatojenik süreci tamamlayarak olgun spermatozoa oluşmasını sağlayabilmektedir. Bu nedenle yardımcı üreme tekniklerini düşünmeden önce mutlaka semen analizi ile sperm oluşumu değerlendirilmelidir. Adölesanda da FSH, LH'de yükselme başlayınca aile ve hasta ile fertilité seçenekleri konuşulmalıdır.

Klinefelter sendromunda erken puberte döneminde spermatozoa içeren semen örneklerinin kriyoprezervasyon (dondurarak saklama) ile saklanması mümkündür ve uygun hastalarda, ejakulatta hareketli sperm görülen kişilerde testosteron tedavisine başlamadan önce önerilmelidir. Puberte germ hücre kaybını hızlandıran bir dönem olduğundan ve erken puberte döneminde hastaların uygun semen örnekleri vermede problemleri olabileceğinden beklenen başarı oranı düşüktür. Hastaların %10'undan azında ejakulatta uygun sperm

TABLO 2: Klinefelter sendromlu hastalarda spontan fertilité dışında çocuk sahibi olma yöntemleri.

Evlat edinme
Donör sperm
Sperm kriyoprezervasyon
TESE
Mikro-TESE
Spermatogonial kök hücre kriyoprezervasyon
Subkapsüler orşiektomi

TESE: Testiküler sperm ekstraksiyonu

görülmektedir. Pubertal çocuklarda masturbasyon ile sperm elde edilmesini etkileyen en önemli faktörün testis hacminin 6 mL üzerinde olması olduğu belirlenmiştir.⁴⁴ Semen örneklerinin alınmasından altı ay önce anastrozol 1 g/gün kullanılmaktadır. Pubertal dönemde ne zaman sperm kriyoprezervasyon yapılacağı önemlidir, fakat en uygun zamanı bilmek her zaman mümkün olmamaktadır.³⁸

Yakın zamana kadar Klinefelter sendromlu hastaların çocuk sahibi olmasının tek yolu donör sperm kullanarak veya evlat edinme ile olsa da ilk kez 1996 yılında Tournaye ve ark. 9 Klinefelter sendromlu hastada testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) ve ardından intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu [intracytoplasmic sperm injection (ICSI)] yöntemini uygulamışlar ve 4'ünde spermatozoa saptamışlardır.⁴⁵ 1997 yılında ise ilk kez bu yöntemle Klinefelter sendromlu hastaların biyolojik baba olabilmeleri sağlanmıştır.^{46,47} Özellikle son yıllarda bu yöntemin geliştirilmiş şekli olan microdissection TESE (micro-TESE)'nin testiküler spermatozoaları ayırt etmede daha avantajlı bir işlem olduğu kanıtlanmıştır. TESE yönteminde multipl kör testis biyopsileri yapılırken; mikro-TESE yöntemi mikrocerrahi olarak aktif spermatogenezin gerçekleştiği seminifer tübüllerin belirlenmesi esasına dayanmaktadır. Bu şekilde testis dokusuna verilebilecek hasar azaltılmış ve sperm elde edilme başarısı artmış olmaktadır.

TESE yöntemi ile sperm elde edildiğinde canlı doğum oranı %20-46 arasında bildirilmiştir.^{48,49} 2013 yılında yayımlanan bir çalışmada, Klinefelter sendromlu hastalarda TESE ve mikro-TESE'nin başarı oranları karşılaştırılmış ve sperm elde edilmesini predikte eden faktörler belirlenmiştir. Buna göre; 741 hastada ortalama sperm elde etme oranı TESE ile %42, mikro-TESE ile %57 olarak belirlenmiştir, canlı doğum oranı ise toplamda %17,9 (TESE ile %15,1, mikro-TESE ile %20,3)'dur.³⁵ Yedi yüz kırk bir hastanın sadece 14'ü mozaik Klinefelter sendromlu hastalardır ve bunların dışlanması başarı oranlarını değiştirmemiştir. Başarılı sperm elde edilmesinde en önemli prediktif faktör testiküler histopatolojidir. Buna karşın, biyopside sperm görülmesi bile TESE'nin başarılı olduğuna dair veriler mevcuttur. Sperm elde etme oranının

bazal serum testosteron değerleri normal olanlarda en yüksek, testosteron tedavisi ile serum testosteron >250 ng/dL olanlarda daha az, tedaviye testosteron yanıtı düşük olanlarda ise en düşük olduğuna dair veriler olsa da serum testosteronun bu oranlar üzerinde etkisi olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur.³⁸ Testiküler ultrasonografi, ayrıntılı kromozom analizi, virilizasyon derecesi, serum FSH, LH ve inhibin B seviyelerinden hiçbirinin TESE sonuçlarını etkilemediği bildirilmiştir.^{50,51}

Çalışmaların bazılarında genç yaş ve testis hacminin başarı oranını artırdığı gösterilmiş olsa da bu konuda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır.³⁵ Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, 41 azospermik Klinefelter sendromlu hastada sperm elde etme oranı %56,1 (23/41) olarak bulunmuştur. Bu çalışmada, yaş aralığı 15-24 yıl olan hastalarda sperm elde etme oranı 25-40 yaş grubu ile benzerdir (%57 ve %55).⁵² Buna karşın yine yakın zamanda yapılan bir çalışmada 50 (13-19 yıl) adölesan ve 85 erişkin Klinefelter sendromlu hastada mikro-TESE uygulanmış ve toplamda 49 (%36,3)'unda spermatozoa saptanmıştır.⁵³ Bu çalışmada ise adölesan grupta sperm elde etme oranı %38, erişkin grupta %31 bulunmuş; fakat 13-14 yaşındaki adölesanlar dışlandığında 15-19 yaş grubunda bu oranın %45 olduğu görülmüştür. Hem adölesan hem erişkin grupta total testosteronun $\geq 7,5$ nmol/L ve LH'nin <17,5 U/L olması sperm elde etme başarısı ile ilişkili bulunmuştur. Araştırmacılar bu çalışmada, daha erken dönemde spermatogenez henüz başlamamış olabileceğinden mikro-TESE işleminin geç pubertal dönemde ve 15 yaş ve üzerinde yapılmasını önermişlerdir.

Normal pubertal gelişim ve yaşa uygun kemik ve kas kütlesi büyümesini sağlamak için peripubertal dönemde erken androjen replasman tedavisi başlanması genellikle önerilmektedir, fakat bu yaklaşımın yardımcı üreme teknikleri üzerine etkisinin değerlendirildiği randomize kontrollü bir çalışma bulunmamaktadır. Suprafizyolojik dozlarda testosteron, LH ve FSH salınımını baskılayarak sperm oluşumunu inhibe edebilmektedir. Klinefelter sendromlu hastalarda yapılan çalışmalarda replasman dozunda testosteron alan hastalarda bu tedavi işleminden 6-9 ay önce kesilmiş ve daha önce

replasman alan ve almayan hastalarda TESE başarı oranları benzer bulunmuştur.⁵⁰ Genel olarak androjen replasman tedavisi altındaki hastalarda mikro-TESE'den en az 6 ay önce tedavinin kesilmesi önerilmektedir. Bu yaklaşım, enjektabl testosteron için tartışılmaz olmakla birlikte, bazı araştırmacılar topikal testosteronun FSH ve LH'de belirgin baskılama yapmadığı sürece kullanılabilirliğini belirtmişlerdir.³⁸

TESE ve mikro-TESE işleminin başarısını artırmak amacıyla birtakım alternatif tedavilerin kullanılması araştırılmıştır. Bunların başlıcaları aromataz inhibitörleri (testolakton/anastrozol), insan koryonik gonadotropin (hCG) ve klomifendir, fakat günümüze kadar yapılan çalışmalarda bunların başarıyı artırdığı kanıtlanmamıştır.³⁵

Mikro-TESE'nin TESE'ye oranla yan etkileri daha azdır. Dört yüz otuz beş Klinefelter sendromu olmayan infertil hastanın alındığı bir çalışmada, TESE sonrası 3-6 ayda serum testosteron seviyelerinde %80 azalma olduğu ve 12 ayda %85, 18 ayda %95 arttığı gösterilmiştir.⁵⁴ Benzer düşüklük Klinefelter sendromlu hastalarda da saptanmış ve bu hastalarda 12. ayda testosteronun başlangıca göre düşük kaldığı görülmüştür.⁵⁵⁻⁵⁷

Spontan da olsa, TESE yöntemi ile de olsa Klinefelter sendromlu hastalarda spermatozoada hem cinsiyet kromozomları (monozomi X, monozomi Y, 47X/Y, 47XXX) hem de otozomlarda (kromozom 13, 18 ve 21) kromozom anormalliği riski yüksektir.⁵⁰ Bu nedenle TESE ve ICSI sürecinde preimplantasyon genetik tanı çiftlere önerilmelidir.

Puberte döneminde spermatogonial kök hücrelerin alınarak dondurulması ve daha sonra kullanılmak üzere saklanması bir diğer seçenektir. Bu yöntem daha çok gonadotoksik tedavi alacak çocuklarda kullanılmakta, kemoterapi veya radyoterapi sonrası dondurulmuş spermatogonial kök hücreler fertilitate istendiği zaman hastanın kendi testisine transplante edilmektedir. Fakat, Klinefelter sendromlu hastalarda zamanla testislerde fibrozis olduğundan dondurulan kök hücrelerin testislere daha sonra nakil edilerek spermatogenezin devam ettirilmesi söz konusu değildir. Elde edilen testiküler dokuda spermatogonia mevcuttur ve

spermatogenez işleminin in vitro devam ettirilerek olgun spermatozoa hâline getirilmesi de henüz başarısızdır. Farelerde spermatogonial kök hücrelerin in vitro ortamda matür sperm hücrelere dönüştürülmesinin başarılması ileride insanlar için de kullanılabilirliği yönünde ümit vermektedir.

Klinefelter sendromlu çocuklarda doku saklanması konusunda yapılan çalışma sayısı hem az hem de alınan hasta sayıları oldukça düşüktür. Genel olarak 12-13 yaşından küçük çocuklarda, serum inhibin B ve FSH değerleri normal olanlarda testiküler biyopside spermatogonia saptanması ihtimalinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir.³² Bu nedenle, testiküler doku saklanması mümkünse hiyalinizasyon gelişmeden yapılması önerilmektedir. Bu yöntemin kullanılmasında pratik sorunlarından biri de Klinefelter sendromlu hastaların %10'dan az bir kısmında puberte öncesi tanı konulabilmesidir. Saklanan dokunun ileride in vitro olarak sperm oluşturmaya henüz başarısız olduğundan, bu yöntem klinik kullanımda önerilememektedir fakat hasta ve ailesi ile tartışılıp yeni yöntemler geliştirilme ihtimali göz önünde bulundurularak saklanabilmektedir.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, biraz daha ileri gidilerek 14 Klinefelter sendromlu hastada tek taraflı orşiektomi yapılmış, 5 hastada sperm elde edilmiş, bunların da 3'ünde gebelik sağlanmıştır.⁵⁸ İşlem başarısı TESE-mikro-TESE'den fazla olmamakla birlikte, işlem süresinin çok daha kısa olması avantaj olarak sunulmuştur. Testosteron düşüklüğü TESE ve mikro-TESE sonrası da görülebildiğinden, postoperatif organ kaybına bağlı androjen replasman ihtiyacında artmanın negatif olarak alınamayacağı, klinik ve etik olarak kabul edilebilir olduğu öne sürülmüştür. Bu çalışmada gösterilmese de teorik olarak tüm dokunun alınarak spermatogonia aranması sperm elde edilmesini artırabilmektedir, fakat bu, az sayıda hasta ile yapılmış yeni bir çalışmadır ve ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

SONUÇ

Klinefelter sendromu, erkeklerde en sık görülen seks kromozom anomalisidir. Doğumda ve pre-

pubertal dönemde semptomlar belirgin olmadığından ve serum FSH, LH, testosteron değerleri sağlıklı çocuklarla benzer olduğundan birçok hastada tanı pubertal dönemde veya daha sıklıkla da erişkin dönemde konabilmektedir. Bu hastalarda testosteron tedavisi puberte döneminin erken-orta dönemlerinde veya ileri yaşlarda tanı konar konmaz başlanmalıdır. Klinefelter sendromlu hastalarda sperm kriyoprezervasyon, TESE, ve mikro-TESE yöntemleri ile fertilité sağlanabilmektedir. Spermatogonial kök hücrelerin dondurulması veya testiküler doku saklanması ise henüz deneysel tedavilerdir. Klinefelter sendromlu hastalarda spontan ya da yardımcı üreme teknikleri ile gebelik elde edildiğinde fetüste hem cinsiyet kromozomları hem de otozomlarda kromozom anormalliği riskinin yüksek olduğu bilinmelidir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Bekir Çakır; **Tasarım:** Didem Özdemir; **Denetleme/Danışmanlık:** Nagihan Beştepe; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Nagihan Beştepe; **Analiz ve/veya Yorum:** Nagihan Beştepe; **Kaynak Taraması:** Nagihan Beştepe; **Makalenin Yazımı:** Nagihan Beştepe; **Eleştirel İnceleme:** Didem Özdemir; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Bekir Çakır.

KAYNAKLAR

1. Klinefelter HF, Reifenstein EC, Albright F. Syndrome characterized by gynecomastia, aspermatogenesis without a-Leydigism, and increased excretion of follicle-stimulating hormone. *Am J Clin Dermatol* 1942;2:615-27.
2. Jacobs PA, Strong JA. A case of human intersexuality having possible XXY sex-determining mechanism. *Nature* 1959;183(4657):302-3.
3. Lanfranco F, Kamischke A, Zitzmann M, Nieschlag E. Klinefelter's syndrome. *Lancet* 2004;364(9430):273-83.
4. Bojesen A, Juul S, Gravholt CH. Prenatal and postnatal prevalence of Klinefelter syndrome: a national registry study. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2):622-6.
5. Smyth CM, Bremner WJ. Klinefelter syndrome. *Arch Intern Med* 1998;158(12):1309-14.
6. Bojesen A, Gravholt CH. Klinefelter syndrome in clinical practice. *Nat Clin Pract Urol* 2007;4(4):192-204.
7. Geschwind DH, Boone KB, Miller BL, Swerdloff RS. Neurobehavioral phenotype of Klinefelter syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2000;6(2):107-16.
8. Temple CM, Sanfilippo PM. Executive skills in Klinefelter's syndrome. *Neuropsychologia* 2003;41(11):1547-59.
9. Forssman H. The mental implications of sex chromosome aberrations. *Br J Psychiatry* 1970;117(539):353-63.
10. Ratcliffe SG, Butler GE, Jones M. Edinburgh study of growth and development of children with sex chromosome abnormalities. IV. Birth Defects Orig Artic Ser 1990;26(4):1-44.
11. Rappold GA, Durand C, Decker E, Marchini A, Schneider KU. New roles of SHOX as regulator of target genes. *Pediatr Endocrinol Rev* 2012;9 Suppl 2:733-8.
12. Rao E, Weiss B, Fukami M, Mertz A, Meder J, Ogata T, et al. FISH-deletion mapping defines a 270-kb short stature critical interval in the pseudoautosomal region PAR1 on human sex chromosomes. *Hum Genet* 1997;100(2):236-9.
13. Swerdloff AJ, Schoemaker MJ, Higgins CD, Wright AF, Jacobs PA. Cancer incidence and mortality in men with Klinefelter syndrome: a cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2005;97(16):1204-10.
14. Völkl TM, Langer T, Aigner T, Greess H, Beck JD, Rauch AM, et al. Klinefelter syndrome and mediastinal germ cell tumors. *Am J Med Genet A* 2006;140(5):471-81.
15. Takeuchi Y, Murata Y, Sintani J, Masukawa H, Nakamura R, Oi K, et al. Klinefelter's syndrome accompanied by mixed connective tissue disease and diabetes mellitus. *Intern Med* 1999;38(11):875-81.
16. Gilliland WR, Stashower ME. Klinefelter's syndrome and systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 2000;18(1):107-9.
17. Berthezene F, Pousset G, Rollet J, Darsy P, Riou JP. [Proceedings: thyrotropin deficiencies in patients with Klinefelter's syndrome (author's transl)]. *Ann Endocrinol (Paris)* 1974;35(5):583-4.
18. Bakshi SR, Trivedi PJ, Brahmabhatt MM, Rawal SM, Kakadia PM, Bhatt SS, et al. Aplastic anemia and Klinefelter syndrome. *Cancer Genet Cytogenet* 2004;154(1):91-2.
19. Bojesen A, Juul S, Birkebaek N, Gravholt CH. Increased mortality in Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(8):3830-4.
20. Ratcliffe SG. The sexual development of boys with the chromosome constitution 47, XXY (Klinefelter's syndrome). *Clin Endocrinol Metab* 1982;11(3):703-16.

21. Sørensen K, Nielsen J, Wohler M, Bennett P, Johnsen SG. Serum testosterone of boys with karyotype 47, XXY (Klinefelter's syndrome) at birth. *Lancet* 1981;2(8255):1112-3.
22. Ross JL, Samango-Sprouse C, Lahlou N, Kowal K, Elder FF, Zinn A. Early androgen deficiency in infants and young boys with 47, XXY Klinefelter syndrome. *Horm Res* 2005;64(1):39-45.
23. Aksglaede L, Petersen JH, Main KM, Skakkebaek NE, Juul A. High normal testosterone levels in infants with non-mosaic Klinefelter's syndrome. *Eur J Endocrinol* 2007;157(3):345-50.
24. Stewart DA, Bailey JD, Netley CT, Rovet J, Park E. Growth and development from early to midadolescence of children with X and Y chromosome aneuploidy: the Toronto Study. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1986;22(3):119-82.
25. Wikström AM, Dunkel L, Wickman S, Norjavaara E, Ankarberg-Lindgren C, Raivio T. Are adolescent boys with Klinefelter syndrome androgen deficient? A longitudinal study of Finnish 47, XXY boys. *Pediatr Res* 2006; 59(6):854-9.
26. Salbenblatt JA, Bender BG, Puck MH, Robinson A, Faiman C, Winter JS. Pituitary-gonadal function in Klinefelter syndrome before and during puberty. *Pediatr Res* 1985;19(1):82-6.
27. Topper E, Dickerman Z, Prager-Lewin R, Kaufman H, Maimon Z, Laron Z. Puberty in 24 patients with Klinefelter syndrome. *Eur J Pediatr* 1982;139(1):8-12.
28. Foresta C, Bettella A, Vinanzi C, Dapri P, Meriggola MC, Garolla A, et al. A novel circulating hormone of testis origin in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(12):5952-8.
29. Bay K, Hartung S, Ivell R, Schumacher M, Jørgensen D, Jørgensen N, et al. Insulin-like factor 3 serum levels in 135 normal men and 85 men with testicular disorders: relationship to the luteinizing hormone-testosterone axis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(6):3410-8.
30. Ivell R, Bathgate RA. Reproductive biology of the relaxin-like factor (RLF/INSL3). *Biol Reprod* 2002;67(3):699-705.
31. Wikström AM, Bay K, Hero M, Andersson AM, Dunkel L. Serum insulin-like factor 3 levels during puberty in healthy boys and boys with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(11):4705-8.
32. Wikström AM, Raivio T, Hadziselimovic F, Wikström S, Tuuri T, Dunkel L. Klinefelter syndrome in adolescence: onset of puberty is associated with accelerated germ cell depletion. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(5): 2263-70.
33. Christiansen P, Andersson AM, Skakkebaek NE. Longitudinal studies of inhibin B levels in boys and young adults with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(2): 888-91.
34. Wikström AM, Hoei-Hansen CE, Dunkel L, Rajpert-De Meyts E. Immunorexpression of androgen receptor and nine markers of maturation in the testes of adolescent boys with Klinefelter syndrome: evidence for degeneration of germ cells at the onset of meiosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(2):714-9.
35. Aksglaede L, Juul A. Testicular function and fertility in men with Klinefelter syndrome: a review. *Eur J Endocrinol* 2013;168(4):R67-76.
36. Aksglaede L, Skakkebaek NE, Almstrup K, Juul A. Clinical and biological parameters in 166 boys, adolescent and adults with non-mosaic Klinefelter syndrome: a Copenhagen experience. *Acta Paediatr* 2011;100(6):793-806.
37. Aksglaede L, Link K, Giwercman A, Jørgensen N, Skakkebaek NE, Juul A. 47,XXY Klinefelter syndrome: clinical characteristics and age-specific recommendations for medical management. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 2013;163C(1):55-63.
38. Wosnitzer MS, Paduch DA. Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2013;163C(1):16-26.
39. Mehta A, Bolyakov A, Roosma J, Schlegel PN, Paduch DA. Successful testicular sperm retrieval in adolescents with Klinefelter syndrome treated with at least 1 year of topical testosterone and aromatase inhibitor. *Fertil Steril* 2013;100(4):970-4.
40. de Ronde W, de Jong FH. Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options. *Reprod Biol Endocrinol* 2011;9:93.
41. Van Assche E, Bonduelle M, Tournaye H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, et al. Cytogenetics of infertile men. *Hum Reprod* 1996;11 Suppl 4):1-26.
42. Laron Z, Dickerman Z, Zamir R, Galatzer A. Paternity in Klinefelter's syndrome--a case report. *Arch Androl* 1982;8(2):149-51.
43. Terzoli G, Lalatta F, Lobbiani A, Simoni G, Colucci G. Fertility in a 47, XXY patient: assessment of biological paternity by deoxyribonucleic acid fingerprinting. *Fertil Steril* 1992;58(4):821-2.
44. Hagenäs I, Jørgensen N, Rechnitzer C, Sommer P, Holm M, Schmiegelow K, et al. Clinical and biochemical correlates of successful semen collection for cryopreservation from 12-18 -year-old patients: a single-center study of 86 adolescents. *Hum Reprod* 2010;25(8): 2031-8.
45. Tournaye H, Staessen C, Liebaers I, Van Assche E, Devroey P, Bonduelle M, et al. Testicular sperm recovery in nine 47, XXY Klinefelter patients. *Hum Reprod* 1996; 11(8):1644-9.
46. Bourne H, Stern K, Clarke G, Pertile M, Speirs A, Baker HW. Delivery of normal twins following the intracytoplasmic injection of spermatozoa from a patient with 47, XXY Klinefelter's syndrome. *Hum Reprod* 1997;12(1):2447-50.
47. Palermo GD, Schlegel PN, Sills ES, Veeck LL, Zaninovic N, Menendez S, et al. Births after intracytoplasmic injection of sperm obtained by testicular extraction from men with nonmosaic Klinefelter's syndrome. *N Engl J Med* 1998;338(9):588-90.
48. Schiff JD, Palermo GD, Veeck LL, Goldstein M, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Success of testicular sperm extraction [corrected] and intracytoplasmic sperm injection in men with Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(11):6263-7.
49. Staessen C, Tournaye H, Van Assche E, Michiels A, Van Landuyt L, Devroey P, et al. PGD in 47, XXY Klinefelter's syndrome patients. *Hum Reprod Update* 2003;9(4):319-30.
50. Westlander G, Ekerhovd E, Granberg S, Hanson L, Hanson C, Bergh C. Testicular ultrasonography and extended chromosome analysis in men with nonmosaic Klinefelter syndrome: a prospective study of possible predictive factors for successful sperm recovery. *Fertil Steril* 2001;75(6):1102-5.
51. Verneave V, Staessen C, Verheyen G, Van Steirteghem A, Devroey P, Tournaye H. Can biological or clinical parameters predict testicular sperm recovery in 47, XXY Klinefelter's syndrome patients? *Hum Reprod* 2004; 19(5):1135-9.
52. Plotton I, Giscard d'Estaing S, Cuzin B, Brosse A, Benchaib M, Lornage J, et al. Preliminary results of a prospective study of testicular sperm extraction in young versus adult patients with nonmosaic 47,XXY Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2015; 100(3):961-7.
53. Rohayem J, Fricke R, Czeloth K, Mallidis C, Wistuba J, Krallmann C, et al. Age and markers of Leydig cell function, but not of Sertoli cell function predict the success of sperm retrieval in adolescents and adults with Klinefelter's syndrome. *Andrology* 2015;3(5):868-75.

54. Ramasamy R, Yagan N, Schlegel PN. Structural and functional changes to the testis after conventional versus microdissection testicular sperm extraction. *Urology* 2005; 65(6):1190-4.
55. Okada H, Shirakawa T, Ishikawa T, Goda K, Fujisawa M, Kamidono S. Serum testosterone levels in patients with nonmosaic Klinefelter syndrome after testicular sperm extraction for intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2004;82(1):237-8.
56. Takada S, Tsujimura A, Ueda T, Matsuoka Y, Takao T, Miyagawa Y, et al. Androgen decline in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *Urology* 2008;72(1):114-8.
57. Ishikawa T, Yamaguchi K, Chiba K, Takenaka A, Fujisawa M. Serum hormones in patients with nonobstructive azoospermia after microdissection testicular sperm extraction. *J Urol* 2009;182(4):1495-9.
58. Fedder J, Gravholt CH, Kristensen SG, Marcussen N, Engvad B, Milton AM, et al. Testicular sperm sampling by subcapsular orchiectomy in Klinefelter patients: a new simplified treatment approach. *Urology* 2015;86(4):744-50.