

Maria Niemi

SIITTIÖIDEN LÖYTYMINEN KIVESBIOPSIALLA ATSOOSPERMIAPOTILAILLA JA ICSI- HOITOJEN TULOKSET TAYS:SSA 2010-2019

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta

Syventävien opintojen opinnäytetyö

Tammikuu 2024

TIIVISTELMÄ

Maria Niemi: Siittiöiden löytyminen kivesbiopsialla atsoospermiapotilailla ja ICSI-hoitojen tulokset TAYS:ssa 2010–2019
Syventävien opintojen opinnäytetyö
Tampereen yliopisto
Lääketieteen lisensiaatin tutkinto-ohjelma
Tammikuu 2024

Atsoospermialla tarkoitetaan siittiöiden puuttumista siemennesteestä toistetuissa analyyseissä. Sen esiintyvyydeksi koko miesväestössä on arvioitu noin 1 %, mutta hedelmöityshoitoihin hakeutuissa miehissä sen esiintyvyys on noin 10–15 %. Atsoospermia jaetaan obstruktiiviseen ja non-obstruktiiviseen atsoospermiiaan. Obstruktiivisessa atsoospermiassa siittiöiden kulkeutuminen siemennesteeseen on estynyt. Non-obstruktiivisessa atsoospermiassa siittiömuodostus on häiriintynyt tai sitä ei ole lainkaan. Usein näillä potilailla on korkea FSH-pitoisuus. Atsoospermiassa siittiöitä voidaan yrittää löytää kiveksestä kivesbiopsialla (TESE), joka tarkoittaa käytännössä paksuneulanäytettä suoraan kiveskudoksesta. Mikäli kivesbiopsialla löydetään siittiöitä, niitä voidaan käyttää koeputkihedelmöityshoidoissa (ICSI eli intracytoplasmic sperm injection).

Aineistossamme siittiöitä löytyi noin puolelta kaikista potilaista (51,6 %). Obstruktiivisilta potilailta siittiöitä löytyi kaikilta ja non-obstruktiivisista 30,8 %:lla. Yleisin histologinen diagnoosi oli Sertoli cell only (35,9 %), jossa siittiöitä löytyi kivesbiopsiassa huonoiten (11,6 %). Tämän jälkeen yleisimmät diagnoosit olivat normaali (22,2 %), maturation arrest eli kypsymishäiriö (18,8 %) ja hypospermatogeneesi (12,0 %). Kivesvaurion histopatologia on jatkumo, joka etenee normaalista hypospermatogeeniin ja kypsymishäiriön kautta Sertoli cell only -tilanteeseen. Samalla myös siittiöiden löytymisen todennäköisyys kivesbiopsiassa heikkenee.

Hypergonadotrooppisilta potilailta löytyi odotetusti huonoiten siittiöitä. Yhteys FSH:n ja siittiöiden löytymisen välillä oli tilastollisesti merkittävä ($p < 0,001$). FSH-arvo, jonka jälkeen kivesbiopsia jää todennäköisimmin negatiiviseksi, oli 10,45 U/l. Kuitenkin korkeillakin FSH-arvoilla yksittäisiltä potilailta löytyy kivesbiopsialla siittiöitä, joten FSH:ta ei voida käyttää potilasvalinnassa kivesbiopsiaan.

Aineistossa raskauksia alkoi 43 parilla eli 52,4 %:lla niistä, joilta löydettiin siittiöitä kivesbiopsiassa. Synnytys tai synnytyksiä oli 39 parilla ja synnytysprosentti oli 24,9 %. Keskenmenoprosentti oli 18,0 %.

Avainsanat: kivesbiopsia, TESE, atsoospermia, ICSI, infertiliteetti
Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -ohjelmalla.

Sisällysluettelo

1 JOHDANTO	1
2 TUTKIMUSMETODI	3
3 TULOKSET.....	3
3.1 BMI	3
3.2 Histologiset löydökset	3
3.3 Kromosomit	4
3.4 Kives- ja tyräleikkaukset.....	4
3.5 Ultraäänitutkimukset.....	5
3.6 Retrogradinen ejakulaatio	5
3.7 Testosteronin käyttö	5
3.8 Hormoniarvot	5
3.9 Syöpäsairaudet.....	7
3.10 Selkäydinvammat.....	7
3.11 Raskaustulokset	7
3.12 Steriloidut potilaat.....	9
3.13 Näytteenanto ei onnistunut.....	9
4 POHDINTA.....	9
5 LÄHTEET	14

1 JOHDANTO

Atsoospermialla tarkoitetaan siittiöiden puuttumista siemennesteestä toistetuissa siemennesteanalyseissä (1). On arvioitu, että atsoospermian esiintyvyys on koko miesväestössä noin 1 %. Atsoospermian esiintyvyydeksi hedelmällisyystutkimuksiin hakeutuvilla miehillä on arvioitu 10–15 %. (2) Atsoospermia luokitellaan obstruktiiviseen ja non-obstruktiiviseen atsoospermiaan, joiden etiologia sekä hoito eroavat toisistaan (3). Obstruktiivisessa atsoospermiassa siittiöiden tuotanto kiveksessä on normaalia, mutta ne eivät voi kulkeutua siemennesteeseen anatomisen poikkeavuuden, vasktomian, infektion tai trauman seurauksena (1).

Non-obstruktiivisessa atsoospermiassa kivesten spermatogeneesi on vahingoittunut. Tällöin mieheltä löytyy usein seerumin luteinisoivan hormonin (LH) ja follikkeliä stimuloivan hormonin (FSH) suureentuneet pitoisuudet ja joskus voi esiintyä myös seerumin matala testosteronipitoisuus eli todetaan hypergonadotrooppinen hypogonadismi. (1,2) Non-obstruktiivisen atsoospermian syynä voi olla myös hypogonadotrooppinen hypogonadismi. Hypogonadotrooppisessa hypogonadismissa ongelma on aivolisäketasolla. FSH- ja LH-tasot ovat matalat tai mittaamattomissa, testosteronitaso usein matala ja siittiötuotanto heikentynyt tai kokonaan loppunut. (6,7)

Non-obstruktiivisen atsoospermian syytä on useita. Syynä voivat olla geneettiset poikkeavuudet, esimerkiksi Klinefelterin oireyhtymä tai Y-kromosomin mikroleetiot, aikaisemmin sairastetut testistorsio, kivistulehdukset, piilokiveksisyys, solunsalpaaja- tai sädehoidot. Usein kuitenkin non-obstruktiivisen atsoospermian syy ei selviä. (1,2)

Hypergonadotrooppisessa hypogonadismissa hedelmällisyyttä ei voi palauttaa hormonaalisella lääkityksellä, sillä kivistiehyet ovat vaurioituneet. Hypogonadotrooppisessa hypogonadismissa taas hedelmällisyys voidaan palauttaa gonadotropiinihoidolla tai jossain tapauksessa aromataasi-inhibiittorihoitolla. (6,8) Hypogonadismin aiheuttamia oireita voidaan hoitaa testosteronilla, mutta koska testosteroni salpaa spermatogeneesin, täytyy testosteronin aloitukseen suhtautua kriittisesti fertiili-ikäisellä miehellä, jolla on mahdollisesti raskaustoive jatkossa (6)

Kansainvälisten tutkimusten mukaan siittiöitä löytyy kivesbiopsialla 16,7 %:lla non-obstruktiivisessa

atsoospermiassa (9) ja 100 %:lla obstruktiivisessa atsoospermiassa (4)

Kivesbiopsia voidaan tehdä johtopuudutuksessa tai nukutuksessa (4). Tekniikoita on useita. Taysissa kivesbiopsia tehdään johtopuudutuksessa. Tavanomaisessa kivesbiopsiassa (TESE) kivespussiin tehdään 1 cm viilto. Sitten kiveskapseliin tehdään 0,5 cm avaus pistopuukolla, jotta päästään ottamaan sokkobiopsia paksuneulabiopsialaitteella. Biopsiassa saadussa kudoksessa tulisi olla vähintään 100 siementiehyttä, joista siittiöitä voidaan etsiä. Haava suljetaan sulavilla ompeleilla. (1,4) Kivesbiopsiaan liittyviä komplikaatioita ovat verenvuodot, hematoomat ja infektiot (1)

Siittiöitä voidaan etsiä myös mikro-TESE-tekniikalla. Siinä etsitään kiveskudoksesta mikroskoopin avulla paksuja siementiehyitä. Näistä voi löytyä siittiöitä tarkemmalla mikroskoopilla alkilaboratorion puolella. Mikro-TESE-toimenpiteessä voidaan löytää siittiöitä silloinkin, kun spermatogeneesiä esiintyy vain läiskittäisesti pienillä alueilla kiveskudoksessa. (4)

Jos siittiöitä löytyy kiveksestä, tehdään pariskunnalle koeputkihedelmöityshoito. Naisen ikä ja munasarjojen kapasiteetti vaikuttavat koeputkihedelmöityshoitojen onnistumiseen. Iän myötä munasolujen määrä vähenee ja laatu heikkenee. Munasarjojen kapasiteettia heijastelee anti-Müller-hormoni (AMH). Korkea AMH-taso ennustaa hyvää vastetta stimulaatiolle mutta ei spontaanin raskauden todennäköisyyttä. Koeputkihedelmöityshoidoilla ei pystytä kumoamaan iän vaikutusta hedelmällisyyteen. (10)

Hedelmöityshoitovaihtoehtoina on koeputkihedelmöitys eli IVF (in vitro fertilization) ja siittiön mikroinjektio munasoluun eli ICSI (intracytoplasmic sperm injection). Hedelmöityshoidossa munarakkuloita ensin kypsytetään ja sitten kerätään munasoluja emättimen kautta ultraääniohjatulla punktiolla. IVF:ssä munasolut laitetaan viljelymaljalle pestyjen siittiöiden kanssa. ICSI:ssä yksittäinen siittiö siirretään mikroinjektioilla munasoluun. Hedelmöittynyt ja normaalisti jakautunut alkio siirretään kohtuonteloon 2-5 päivän kuluttua hedelmöitymisestä. (11)

Kivesbiopsialla saatu siittiö viedään munasoluun yleensä mikroinjektioilla (ICSI). On epäselvää vaikuttaako atsoospermian syy ICSI-hoidon tuloksiin. (5,12)

2 TUTKIMUSMETODI

Kyseessä on retrospektiivinen kohorttitutkimus, joka toteutettiin etsimällä ja analysoimalla tiedot TAYS:n Hormoni- ja lapsettomuuspoliklinikalla tehdyistä kivesbiopsioista aikavälillä 1.1.2010–31.12.2019. Haku suoritettiin toimenpidekoodin KFB00 Kivesbiopsia perusteella. Tiedot kerättiin potilastietojärjestelmistä Uranus ja Babe. Aineisto analysoitiin SPSS-ohjelmistolla, versio 29.0.0.0 (241).

3 TULOKSET

Tässä tutkimuksessa analysoitiin potilaat, joille oli tehty kivesbiopsia elektiivisesti (97,5 %) tai akuutisti punktiopäivänä tilanteessa, jossa yllättäen ejakulaatista ei löytynyt siittiöitä (2,5 %). Kivesbiopsia tehtiin aikavälillä 01/2010–12/2019 158 atsoospermiapotilaalle.

Näistä 158 potilaasta atsoospermia oli 81,8 %:lla, graavi oligotsoospermia 2 %:lla ja anejakulaatio 16,2 %:lla. Lisäksi aineistossa oli 17 potilasta, joille oli tehty sterilisaatio, ja 18 potilasta, joilla näytteenanto ei onnistunut.

3.1 BMI

Potilaista 18,2 % oli normaalipainoisia (BMI <25), 20,1 % ylipainoisia (BMI 25-30) ja 9,4 % lihavvia (BMI >30). Potilastiedoista tosin puuttui yli puolelta (52,2 %) potilaista tiedot painosta ja pituudesta. BMI ei juurikaan tässä aineistossa ennustanut siittiöiden löytymisen todennäköisyyttä. Normaalipainoisilla löytyi 51,7 %:lla siittiöitä, ylipainoisilla 53,1 %:lla ja lihavilla 40,0 %:lla. Tosin vain 15 potilaalla BMI oli yli 30 (9,4 % koko tutkimuspopulaatiosta).

3.2 Histologiset löydökset

Otetuista kivesbiopsioista histologinen diagnoosi katsottiin patologin toimesta 73,6 %:lta. Yleisin histologinen diagnoosi oli Sertoli cell only, joka todettiin histologisesti 43 potilaalla (36,8 %). Seuraavaksi yleisin diagnoosi oli normaali histologia, jossa kiveksestä löytyi normaali määrä kypsiä siittiöitä. Tällainen obstruktiivinen tilanne oli 26 potilaalla (22,2 %). Maturation arrest-tilanne kivesbiopsiassa oli 22 miehellä (18,8 %), hypospermatogeneesi 14 miehellä (12,0 %), jokin muu diagnoosi yhdeksällä miehellä (7,7 %) ja näyte oli epäedustava kolmella (2,6 %). Muihin

diagnooseihin laskettiin itusoluaplasia, atrofia ja tubulaarinen skleroosi, joita oli yksittäisillä potilailla.

Histologisella diagnoosilla on merkitystä siittiöiden löytymisen todennäköisyyteen. Luonnollisesti, jos kiveksen histologia oli täysin normaali, kaikilta näiltä miehiltä löydettiin siittiöitä. Sertoli cell only -tilanteessa vain 11,6 %:lla löydettiin kivesbiopsiassa siittiöitä. Maturation arrest -tilanteessa siittiöiden löytymisen todennäköisyys oli parempi: siittiöitä löydettiin 40,9 %:lla.

Hypospermatogeneesissä siittiöitä löydettiin 57,1 %:lla (n=14).

Taulukko 1. Siittiöiden löytyminen kivesbiopsiassa histologisen diagnoosin mukaan.

Histologinen diagnoosi	Ei löydetty siittiöitä	Siittiöitä	Yhteensä
		kivesbiopsiassa	
Normaali	0 (0 %)	26 (100 %)	26
Sertoli cell only	37 (88,4 %)	5 (11,6 %)	42
Maturation arrest	13 (59,1 %)	9 (40,9 %)	22
Hypospermatogeneesi	6 (42,9 %)	8 (57,1 %)	14
Muut	5 (55,6 %)	4 (44,4 %)	9
Epäedustava näyte	1 (33,3 %)	2 (66,7 %)	3
Summa	62 (53,8 %)	54 (46,2 %)	116

3.3 Kromosomit

Aineistossamme kromosomit tutkittiin 115 mieheltä. Näistä kolmella oli Klinefelterin oireyhtymä (2,6 %). Yhdeltä näistä potilaista löytyi kivesbiopsiassa siittiöitä (33,3 %), mutta ICSI-hoitoon ei edetty. Y-kromosomin mikrodeleetio tutkittiin 111 potilaalta ja deleetio löytyi 6 potilaalta (3,8 %). Näistä yhdeltä (16,7 %) löytyi kivesbiopsiassa siittiöitä.

3.4 Kives- ja tyräleikkaukset

Kivesleikkaus oli tutkimuspopulaatiossa anamneesissa 30 potilaalla (19,4 %). Kivesleikkauksia olivat muun muassa kiveksen eksploraatio-, testistorsio- ja kivessyöpäleikkaukset. Siittiöitä löytyi 17 potilaalla (56,7 %) niistä, joiden kiveksiä oli aikaisemmin operoitu. Tyräleikkaus oli tehty 6 potilaalle (3,8 %). Näistä potilaista kahdelta löytyi siittiöitä (33,3 %).

3.5 Ultraäänitutkimukset

86 miehelle (54,1 %) oli tehty kivesten ultraäänitutkimus atsoospermian selvittelyissä. Ultraäänitutkimuksessa mikrolitiaasia löytyi neljältä potilaalta (4,7 %). Varikoseele todettiin 25 potilaalla (29,1 %). Näistä 28,2 %:lla löytyi siittiöitä.

3.6 Retrogradinen ejakulaatio

Retrogradinen ejakulaatio oli anamneesissa 12 potilaalla (7,5 %). Näistä potilaista vain yhdeltä ei löytynyt kivesbiopsiassa siittiöitä, eli siittiöitä löytyi 91,7 %:lla anejakulaatiopotilaista.

3.7 Testosteronin käyttö

Anamneesissa aikaisempaa testosteronin käyttöä oli raportoitu 13 potilaalla (9,1 %). Näillä potilailla kahdeksalla (61,5 %) löytyi kivesbiopsiassa siittiöitä.

3.8 Hormoniarvot

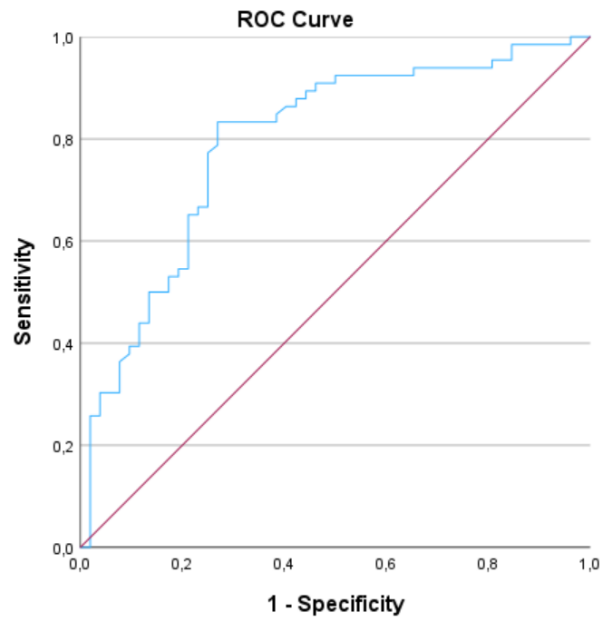
Matala testosteroni (S-Testo <10,0 nmol/l) oli 31 (19,5 %) aineiston potilaalla. Näistä potilaista 14:lla löytyi siittiöitä (45,2 %). Potilailla, joilla testosteronitaso oli >10 U/l, siittiöitä löytyi 47,1 %:lla.

Matala FSH-taso (<4,0 U/l) todettiin 23 potilaalla (14,5 %). FSH-taso oli normaali (4,0-15,0 U/l) 37,1 %:lla ja korkea (>15,0 U/l) 31,4 %:lla. Kun FSH oli <4,0 U/l, siittiöitä löytyi 18 potilaalla (78,3 %). Kun FSH oli 4,0–15,0 U/l, siittiöitä löytyi 31 potilaalta (52,5 %). Hypergonadotrooppisilla potilailla löytyi odotetusti huonoiten siittiöitä (n=12, 24,0 %).

Yhteys FSH:n ja siittiöiden löytymisen välillä oli merkittävä (p<0,001, 99 % CI), FSH:n spesifisyys oli 83,3 % ja sensitiivisyys 73,1 %. Potilaista, joiden FSH-taso oli $\geq 10,45$ U/l, 79,7 %:lla ei löytynyt siittiöitä (negatiivinen ennustearvo, NPV 83,3 %). Potilaista, joiden FSH oli <10,45, 38:lla (77,6 %) löytyi siittiöitä (positiivinen ennustearvo, PPV 73,1 %). (Taulukko 2) ROC-käyrässä verrataan FSH-arvoja siittiöiden löytymiseen. Rajapiste (optimal cut off point), jonka jälkeen kivesbiopsia jäi todennäköisimmin negatiiviseksi, oli 10,45 U/l. (Kuva 1, Taulukko 3)

Taulukko 2. FSH:n vaikutus siittiöiden löytymisen todennäköisyyteen

FSH (U/l)	Siittiöitä kivesbiopsiassa		
	Kyllä	Ei	SRR
p <0,001, PPV 73,1 % NPV 83,3 %			
< 10,45	38	11	77,6 %
> 10,45	14	55	22,6 %



Kuva 1. FSH:n ROC-käyrä

Taulukko 3. FSH:n optimaalinen rajapiste, AUC, FSH:n sensitiivisyys ja spesifisyys.

	Optimaalinen rajapiste	AUC (alue käyrän alapuolella)	Spesifisyys	Sensitiivisyys
FSH	10,45	0,794	83,3 %	73,1 %

Aromataasi-inhibiittori Letrozolia käytti ennen kivesbiopsiaa 16 potilasta (10,1 %). Potilaista, joilla oli matala testosteronitaso (<10,0 U/l), Letrozol aloitettiin 7 potilaalle (22,6 %). Näistä potilaista kahdelta (28,6 %) löytyi siittiöitä kivesbiopsiassa. Potilailla, joilla oli matala testosteroni (<10,0 U/l) ja joille ei aloitettu Letrozol-lääkitystä, siittiöitä löytyi 50 %:lla. HCG aloitettiin 7 potilaalle (4,4 %). Kenellekään potilaalle ei aloitettu sekä Letrozol- että HCG-lääkitystä.

3.9 Syöpäsairaudet

Hoidettu syöpäsairaus oli anamneesissa 17 potilaalla (10,7 %). Näistä potilaista noin kolmannekselta löytyi siittiöitä kivesbiopsiassa (29,4 %). Aineistossa ei tarkemmin eritelty minkä elimen syövästä oli kyse.

3.10 Selkäydinvammat

Aineistossa oli 11 potilasta, joilla oli todettu jonkinasteinen selkäydinvamma (6,9 %). Näillä potilailla siittiöiden löytymisen todennäköisyys oli hyvä; yhdeksällä potilaalla löytyi siittiöitä kivesbiopsiassa (81,8 %).

3.11 Raskaustulokset

Siittiöitä löydettiin kivesbiopsiassa 82 potilaalla (51,9 %). Näistä 67 potilaan (81,7 %) kohdalla edettiin ICSI-hoitoon. 93,8 %:lla saatiin alkioita ICSI-hoidosta, ja kaikkien näiden parien kohdalla päästiin tuorealkionsiirtoon. 61 parille tehtiin alkionsiirto ja raskauksia alkoi 43 parilla. Tämä on 52,4 % pareista, joilta löytyi kivesbiopsiassa siittiöitä ja 70,5 % niistä, joilla päästiin alkionsiirtoon. Yhteensä raskauksia alkoi 61 kappaletta. Kaikista alkionsiirroista 24,9 % päättyi synnytykseen. Synnytyksiä oli yhteensä 46. 63,9 % niistä naisista, joille tehtiin alkionsiirto, synnytti. Kaksosraskauksia aineistossa oli kaksi (4,3 % synnytykseen päätyneistä raskauksista). Keskenmenoprosentti oli 18,0 %. (Taulukko 4)

Obstruktiivisilla potilailla 88,5 %:lla edettiin ICSI-hoitoon ja raskaus alkoi 78,3 %:lla pareista. Kolmelle Sertoli cell only-potilaalle tehtiin ICSI-hoito, joista kaikki synnyttivät. Non-obstruktiivisilla potilailla kaiken kaikkiaan ICSI-hoitoon päästiin 22 potilaan kohdalla (24,4 %). Näistä 10 paria synnytti (11,1 % potilaista, joilla todettiin non-obstruktiivinen atsoospermia). (Taulukko 5)

Yhteensä syntyneitä lapsia oli 48. Poikia syntyi 28 (58,3 %), tyttöjä 19 (39,6 %) ja tieto sukupuolesta puuttui yhdeltä lapselta (2,1 %). Syntymäpainojen keskiarvo oli 3 465,75 g ja mediaani 3 527 g. Keskosia (syntymäpaino alle 2500 g) oli 4 (8,3 %). Synnytystapa oli tiedossa 36

synnytyksessä (78,3 %). Näistä alatiesynnytyksiä oli 23 (63,9 %), sektioita 10 (27,8 %) ja imukuppiavusteisia synnytyksiä 3 (8,3 %).

Kivesbiopsiassa otettiin keskimäärin 5,24 palaa (vaihteluväli 2–10). 37,9 % kivesbiopsioista tehtiin vasempaan kivekseen, 48,9 % oikeaan ja 12,1 % molempiin kiveksiin.

Lapsettomuuden keston keskiarvo oli 33,7 kk ja mediaani 24 kk (vaihteluväli 0–120 kk).

Taulukko 4. ICSI-hoitojen tulokset.

	Keskiarvo	Vaihteluväli	Yhteensä			
Kypsiä munasoluja	9,19	1–23	1075	Hedelmöittymisprosentti		
Hedelmöittyneitä munasoluja	5,19	0–16	607	56,5 %		
Alkioita	4,55	0–15	532	Kliinisten raskauksien osuus		
Alkionsiirtoja	1,78	1–6	185	33,0 %		
	0	1	2	3	4	Yhteensä
Icsi-hoitojen määrä (paria)		36 (53,7 %)	17 (25,3 %)	9 (13,4 %)	5 (7,5 %)	67 ICSI-hoitoa
Raskauksia (pareista, joille tehty alkionsiirto)	18 (29,5 %)	31 (50,8 %)	7 (11,5 %)	4 (6,6 %)	1 (1,6 %)	61 raskautta
Synnytyksiä (raskauksista)	15 (24,6 %)	34 (55,7 %)	4 (6,6 %)	0 (0,0 %)	1 (1,6 %)	46 synnytystä (synnytysprosentti 24,9 %)
Keskenmenoja		9	1	0	0	11 keskenmenoaa (keskenmenoprosentti 18,0 %)
Kohdunulkoisia raskauksia		0	1	0	0	2 kohdunulkoista raskautta

Taulukko 5. Tehdyt ICSI-hoidot potilailla, joilta löytyi siittiöitä, raskaudet ICSI-hoidoista ja synnytykset histologisen diagnoosin mukaan.

Histologinen diagnoosi	ICSI		Raskauksia		Synnytyksiä	
	Ei	Kyllä	Ei	Kyllä	Ei	Kyllä
Normaali	3 (11,5 %)	23 (88,5 %)	5 (21,7 %)	18 (78,3 %)	1 (5,6 %)	17 (94,4 %)
Sertoli cell only	2 (40,0 %)	3 (60,0 %)	0 (0 %)	3 (100 %)	0 (0 %)	3 (100 %)
Maturation arrest	2 (22,2 %)	7 (77,8 %)	4 (57,1 %)	3 (42,9 %)	1 (33,3 %)	2 (66,7 %)
Hypospermatogeneesi	2 (25,0 %)	6 (75,0 %)	5 (83,3 %)	1 (16,7 %)	0 (0 %)	1 (100 %)
Muut	0 (0 %)	4 (100 %)	2 (50,0 %)	2 (50,0 %)	0 (0 %)	2 (100 %)
Epäedustava näyte	0 (0 %)	2 (100 %)	0 (0 %)	2 (100 %)	0 (0 %)	2 (100 %)
Yhteensä	9 (16,7 %)	45 (83,3 %)	16 (35,6 %)	29 (64,4 %)	2 (6,9 %)	27 (93,1 %)

3.12 Steriloidut potilaat

Aineistossa sterilisaatio oli tehty 17 potilaalle (8,5 %). Kaikilta steriloiduilta potilailta löytyi kivesbiopsiassa siittiöitä (100 %). ICSI-hoito tehtiin 16 parille. Hoitoja tehtiin yhteensä 27, keskimäärin paria kohden 1,69. Alkioita saatiin keskimäärin yhdellä ICSI-hoidolla 4,37, mediaani 4. Vaihteluväli oli 0–13 alkioita. Alkionsiirtoja tehtiin yhteensä 35. Raskaaksi tuli 12 paria (75 %). Yhteensä raskauksia alkoi 17. Synnytyksiä oli 13, synnytysprosentti oli 37,14 %. Keskenmenoja tapahtui 4. Keskenmenoprosentti oli 23,53 %.

3.13 Näytteenanto ei onnistunut

Potilaita, joilla näytteenanto ei onnistunut, oli aineistossa 18. Näistä 17:lla löytyi kivesbiopsiassa siittiöitä (94,4 %).

4 POHDINTA

Tässä tutkimuksessa selvitettiin sitä, kuinka usein kivesbiopsialla löytää siittiöitä ja kuinka suuri osa pariskunnista saa lapsen omilla siittiöillä. Tutkimuspopulaation koko oli kohtalaisen hyvä (158 kivesbiopsiapotilasta).

Aineistossa siittiöitä löytyi 82 potilaalta (SRR eli sperm retrieval rate 51,6 %). Non-obstruktiivisilla potilailla SRR oli 30,8 % ja obstruktiivisilla 100 %. Tulokset ovat hyvin samankaltaisia verrattuna

Bonarriba et al. tutkimukseen: SRR kokonaisuudessa 47,2 %, non-obstruktiviisilla 36 % ja obstruktiviisilla 100 %. (13)

Histologinen diagnoosi ennusti hyvin aineistossa siittiöiden löytymisen todennäköisyyttä. Myös kirjallisuudessa histologisen diagnoosin on todettu ennustavan hyvin siittiöiden löytymisen todennäköisyyttä (14). Obstruktivisessa atsoospermiassa kiveksen histologia on normaali, ja aineistossa näiltä kaikilta potilailta löytyi siittiöitä kivesbiopsiassa. Näin on myös kirjallisuudessa ja siittiöiden löytymisen todennäköisyys normaalilla histologialla on lähes sata prosenttia (14,15)

Käytännössä kiveksen histologia selviää vasta jälkepäin kivesbiopsian yhteydessä otetun koepalan histologisesta tutkimuksesta. Näin ollen sitä ei voi käyttää apuna päätöksenteossa sille, kannattaako potilaalle tehdä kivesbiopsia, vai kannattaako potilas ohjata suoraan mikro-TESE-toimenpiteeseen.

Kivesvaurion histopatologia on jatkumo, joka etenee hypospermatogeneesiin, maturion arrest - tilanteen ja Sertoli cell only -tilanteen kautta tubulaariseen skleroosiin. Hypospermatogeneesissa kivesbiopsiassa nähdään kaikkia spermatogeneesiin osia, ja se etenee loppuun asti. Kaikkien solujen määrä on vähentynyt. Maturation arrest -tilanteessa spermatogeneesi on pysähtynyt osittain primaaristen spermatosyyttien tai spermatogonioiden tasolla. Paikoittain spermatogeneesiä kypsiksi siittiöiksi voi esiintyä. (16) Sertoli cell only -syndroomassa kiveksestä puuttuvat itusolut. Siementiehyissä on nähtävillä vain Sertolin soluja. Spermatogeneesi joko puuttuu kokonaan tai sen määrä on hyvin vähäinen. (17) Kivesvaurio voi olla alueellista ja kiveksessä voi olla paikallisesti normaalia spermatogeneesiä. Tällöin siittiöitä voidaan löytää myös kiveksistä, joissa spermatogeneesi on histologisesti pysähtynyt. (18)

Siittiöiden löytymisen todennäköisyys (SRR) vaihtelee suuresti eri tutkimuksen välillä (17) Sekä kirjallisuudessa että omassa aineistossamme siittiöiden löytymisen todennäköisyys on suurin hypospermatogeneesipotilailla ja huonoin Sertoli cell only -potilailla. Citon ym. (2018) mukaan hypospermatogeneesissä SRR oli 48,3 %, maturation arrestissa 24,1 % ja Sertoli cell only - tilanteessa 0,0 % (14), kun taas Gnessin ym. (2018) tutkimuksessa nämä luvut olivat huomattavasti paremmat: hypospermatogeneesi 88,6 %, maturation arrest 77,3 % ja Sertoli cell only 29,3 % (Gnessi et al., 2018). Molemmat tutkimukset ovat italialaisia vuodelta 2018. Aineistomme tulokset jäävät näiden kahden tutkimuksen väliin: hypospermatogeneesi 57,9 %, maturation arrest 40,9 % ja Sertoli cell only 11,6 %. Erot tuloksissa voivat johtua esimerkiksi potilasvalinnan eroista,

patologioiden kokemuksesta tai aineiston koosta; Gnani ym. (2018) 486, Cito ym. (2018) 82 ja omassa aineistossamme 116. Esimerkiksi Cito ym. (2018) tutkimuksessa vain seitsemältä potilaalta löytyi Sertoli cell only -syndrooma, joten se, että SRR oli 0,0 %, voi selittyä sattumalla.

Atsoospermiapotilaiden LH- ja FSH-tasot on todettu huomattavasti kohonneiksi (19). Non-obstruktiivisessa atsoospermiassa ennusteen on todettu parantuvan FSH- ja LH-arvojen laskiessa (Gnani et al., 2018). Banerjee ym. (2023) totesivat omassa tutkimuksessaan, että SRR oli 22 %, kun FSH oli > 20 U/l, kun taas FSH:n ollessa 10-20 U/l SRR oli 75 %. SRR oli 84 %, kun FSH oli <10 U/l.

(20) Optimaalista FSH-tasoa, joka ennustaisi hyvin negatiivista kivesbiopsiaa on yritetty löytää. Eri tutkimuksissa on saatu hyvin erilaisia FSH-arvoja raja-arvoksi. Vaihteluväli eri tutkimuksien välillä on ollut 4,09–19,0 U/l. Oman aineiston tuloksemme asettuu tähän väliin (10,45 U/l). Bonarriba ym. (2013) totesivat tutkimuksessaan, että matala inhibiini B -arvo olisi tarkempi ennustamaan negatiivista kivesbiopsiaa. Kuitenkin on potilaita, joilta löytyy kivesbiopsiasta siittiöitä korkeilla FSH- sekä matalilla inhibiini B -arvoilla, eikä näitä potilaita pystytä erottelemaan ennen kivesbiopsiaa.

(13) Suurin osa miehistä toivoo asiaa tutkittavan, vaikka siittiöiden löytymisen todennäköisyys olisikin pieni muttei olematon, koska monelle biologisen jälkeläisen saaminen on ensisijainen vaihtoehto.

Klinefelterin syndrooma on yleisin kromosomaalinen häiriö miehillä, sekä yleisin tunnettu syy atsoospermian taustalla. Klinefelterin syndrooman esiintyvyydeksi länsimaissa on arvioitu 0,15 %.

Vain noin 10 % diagnooseista tehdään lapsuus- tai nuoruusiässä. Oireyhtymä löytyykin usein lapsettomuustutkimuksien yhteydessä, sillä oireyhtymä johtaa atsoospermiaan. (21) Vaikka oireyhtymä on atsoospermiassa on yleinen, aineistossa oli vain kolme potilasta (2,6 %), joilla oli 46XXY-kromosomisto. Syynä tähän on se, että Klinefelter-potilaat on tällä tutkimuksen aikavälillä lähetetty suoraan mikro-TESE:en alun perin Turun yliopistolliseen keskussairaalaan ja myöhemmin leikkaus on tehty suoraan TAYS:ssa. Klinefelterin oireyhtymässä kivekset ovat kooltaan pienet, jolloin biopsia on teknisesti haastava. Lisäksi Klinefelterin oireyhtymässä spermatogeneesi on läiskittäistä, jolloin mikro-TESE:llä siittiöiden löytymisen todennäköisyys on suurempi. (22)

Aineistossa kiveksiin kohdistunut kirurginen toimenpide oli tehty 30 potilaalle (19,4 %). Aineistossa toimenpiteitä ei eritelty tarkemmin. Kirurgiset toimenpiteet ovat tunnettu riskitekijä obstruktiiviselle atsoospermialle (23) Toisaalta leikkaukseen johtaneet diagnoosit, kuten laskeutumattomat kivekset, voivat olla atsoospermian aiheuttaja. Aineistossa ei ole eritelty erilaisia toimenpiteitä toisistaan. Leikkauksiin laskettiin eksploraatio-, torsio- ja kivesten poistoleikkaukset.

Almekaty ym. (2023) havaitsivat tutkimuksessa, että 33,8 %:lla leikatuista testistorsiopotilaista on atsoospermia 3 kk päästä leikkauksesta. Tutkimuksessa tutkittiin 18–20-vuotiaita miehiä, joilla todettiin testistorsio. Lisäksi näillä potilailla havaittiin kohonneet LH- ja FSH-tasot, sekä madaltuneet testosteronitasot. Näillä potilailla havaittiin lisäksi toisessa kiveksessä vaurioita lähes kaikilla. (24) Tyypillisemmin testistorsio on kuitenkin pienten lasten ongelma, jolloin spermatogeneesi ei ole käynnistynyt. Testistorsion pitkäaikaisvaikutuksista spermatogeneesiin ei ole tietoa (25)

Kirjallisuudessa on esitetty, että tyräleikkauksiin, joissa käytetään verkkoa, liittyy pieni riski obstruktiiviseen atsoospermiaan: 0,03 % avoimista ja 2,5 % bilateraalista laparoskooppista leikkauksista (26). Aineistossamme tyräleikkaus oli tehty vain 6 potilaalle (3,8 %), näistä kahdelta löytyi siittiöitä. Pienen potilasmäärän vuoksi tämän aineiston perusteella ei voi tehdä päätelmiä atsoospermian ja tyräleikkausten yhteydestä.

Jokin hoidettu syöpäsairaus oli 10,7 %:lla tutkimuksemme potilaista. Näistä vain 29,4 %:lla löytyi siittiöitä. Aineistossa ei eritelty syöpiä toisistaan. Syöpähoidot, sekä sytostaatit, että sädehoito ovat gonadotoksisia. Jopa 24 %:lla potilaista, joilla on hoidettu syöpäsairaus, on pitkäaikaiseurannassa todettu atsoospermia tai vaikea oligotsoospermia. Jo matalat sädeannokset kivekseen voivat aiheuttaa atsoospermiaa. Matalilla annoksilla atsoospermia voi olla palautuvaa, mutta pysyvän atsoospermian todennäköisyys nousee mitä korkeampia sädeannoksia joudutaan käyttämään. Sytostaattien vaikutus spermatogeneesiin riippuu käytetystä sytostaatista. Erityisen haitallisia siittiötuotannolle ovat alkykoivia aineita sisältävät sytostaatit.(27) Hsiaon ym. (2011) mukaan sytostaatteja saaneista potilaista, joilla on todettu atsoospermia, mikro-TESE:llä siittiöitä löytyi 37 %:lla (28). Vaikka sytostaatit ja sädehoito aiheuttavat DNA-vaurioita, syöpähoitoja saaneiden vanhempien lapsilla ei ole todettu lisääntyneesti perinnöllisiä sairauksia tai synnynnäisiä poikkeavuuksia (27)Aineistomme ja kirjallisuuden perusteella syöpähoidot heikentävät spermatogeneesiä huomattavalla osalla potilaista. Tämän vuoksi siittiöiden pakastaminen hedelmällisyyden säilyttämiseksi ennen syöpähoitoja on tärkeää, jotta mahdollisuus tulevaisuudessa biologiseen lapseen säilyy. Kuitenkin osalla syöpä on voitu todeta, niin nuorena ettei hedelmällisyyden säilyttäminen ole ollut mahdollista, tällöin siittiöitä voidaan optimaalisessa tilanteessa löytää myöhemmin kivesbiopsialla tai mikro-TESE:llä.(27)

Retrogradinen ejakulaatio oli aineistossa 12 potilaalla ja vain yhdeltä potilaalta ei löytynyt kivesbiopsiassa siittiöitä. Retrogradisessa ejakulaatiossa virtsarakon kaula ei sulkeudu normaalisti,

jolloin siittiöt kulkeutuvat virtsarakkoon. Syynä voi olla synnyinäinen poikkeavuus, selkäydinvamma, diabetes tai se voi olla idiopaattista. Tilanne on siis toiminnallinen häiriö ja siittiöitä löytyy yleensä kivesbiopsiassa hyvin. (29) Kivesbiopsian sijaan siittiöitä voidaan eristää myös ejakulaation jälkeisestä virtsasta. Käytännössä tätä ei enää tehdä TAYS:ssa, koska hoitotulokset ovat selvästi paremmat kivesbiopsiasta saaduilla siittiöillä. Lisäksi retrogradista ejakuaatiota voidaan yrittää hoitaa antikolinergeillä tai sympatomimeeteillä (29).

Tutkimuksessamme hedelmöittymisprosentti oli 56,5 % ja kliinisten rakausten osuus (clinical pregnancy rate) 33,0 %. Keskenmenoprosentti oli 18,0 % ja synnytysprosentti 24,9 %. Aineistossa ei eritelty raskaustuloksia obstruktiivisen ja non-obstruktiivisen atsoospermian osalta tarkemmin. Kirjallisuudessa obstruktiivisessa atsoospermiassa on todettu suuremmat hedelmöittymis- ja raskautumistodennäköisyydet kuin non-obstruktiivisessa atsoospermiassa, mutta synnytys- ja keskenmenoprosenteissa ei todettu tilastollista merkitsevyyttä. Kuitenkin Boccan ym. (2017) tutkimuksessa obstruktiivisilla potilailla keskenmenoprosentti oli 10,7 % ja non-obstruktiivisilla 23,1 %. Hedelmöittymis-, synnytys- ja keskenmenotekijöihin vaikuttavat useat eri tekijät. Erityisesti naisen ikä heikentää hedelmöityshoitojen tuloksia. (30) Verratessa TESE-ICSI:ä ja ICSI:ä eroja todennäköisesti selittää siittiöiden laatu ja vähäinen määrä sekä pakastus-sulatusprosessin läpikäyminen (31). Tosin aineistossamme tällaista vertailua ei tehty, sillä kaikille potilaille oli tehty TESE. Kirjallisuuden mukaan vain 13,4 % miehistä, joilla todetaan non-obstruktiivinen atsoospermia, saa biologisen lapsen (32). Aineistossamme vastaava luku oli 11,1 %.

Kirjallisuudessa sterilisaation purulla ja kiveksestä saaduilla siittiöillä tehtyjen ICSI-hoitojen välillä ei ole todettu tilastollista eroa raskaustuloksissa. Aineistossamme steriloiduilla potilailla synnytysprosentti oli 37,14 %. Kirjallisuudessa on saatu hyvin tätä vastaavia synnytysprosentteja (43,8 %) (33) Aineistossamme on tosin vain vähän potilaita, joille on tehty sterilisaatio (17 kpl), sillä 2010-luvulla lopetettiin hedelmöityshoitojen tarjoaminen julkisella puolella potilaille, joille on tehty sterilisaatio.

Kivesbiopsialla 51,9 %:lta atsoospermiapotilaista löytyi siittiöitä. Obstruktiivisista potilailta kaikilta löytyi siittiöitä ja non-obstruktiivisista 30,8 %:lta. Näistä potilaista lapsen sai 27,2 %. Obstruktiivisista potilaista 65,4 % ja non-obstruktiivisista 11,1 % sai biologisen lapsen. Keskenmenoprosentti oli 18,0 % ja synnytysprosentti 24,9 %.

Kun potilaalla on diagnosoitu atsoospermia, tilanne tulee potilaalle usein yllätyksenä ja voi järkyttää. Tärkeää on selvittää hormonaalisin mittauksin ja geneettisin testein, sekä kliinisellä tutkimuksella (erityisesti kivesten koko), onko kyse todennäköisimmin obstruktiivisesta vai non-obstruktiivisesta syystä atsoospermian taustalla. Tarkka diagnoosi saadaan kuitenkin vasta biopsian jälkeen. Sen jälkeen potilaan kanssa keskustellaan mahdollisuudesta löytää siittiöitä joko kivesbiopsialla tai mikrodissektiolla. Tässä tilanteessa potilas ja hänen puolisonsa hyötyvät tiedosta, kuinka usein siittiöitä toimenpiteellä löytyy, ja mikä on pariskunnan kohdalla todennäköisyys synnytykseen omilla siittiöillä.

5 LÄHTEET

1. Klami R, Mankonen H, Perheentupa A. Siittiöitä suoraan kiveksestä? Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim [Internet]. 2018 [cited 2020 Oct 30];108:1897–903. Available from: <https://www.duodecimlehti.fi/duo14534>
2. Corona G, Minhas S, Giwercman A, Bettocchi C, Dinkelman-Smit M, Dohle G, et al. Sperm recovery and ICSI outcomes in men with non-obstructive azoospermia: A systematic review and meta-analysis. Vol. 25, Human Reproduction Update. Oxford University Press; 2019. p. 733–57.
3. Wosnitzer M, Goldstein M, Hardy MP. Review of Azoospermia. Spermatogenesis [Internet]. 2014 Jan 31 [cited 2020 Oct 30];4(1):e28218. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/spmg.28218>
4. Dohle GR, Elzanaty S, Van Casteren NJ. Testicular biopsy: Clinical practice and interpretation [Internet]. Vol. 14, Asian Journal of Andrology. Wolters Kluwer -- Medknow Publications; 2012 [cited 2020 Dec 10]. p. 88–93. Available from: </pmc/articles/PMC3735160/?report=abstract>
5. Abdel Raheem A, Rushwan N, Garaffa G, Zacharakis E, Doshi A, Heath C, et al. Factors influencing intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome in men with azoospermia. BJU Int [Internet]. 2013;112(2):258–64. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-410X.2012.11714.x>
6. Basaria S. Male hypogonadism. In: The Lancet. Lancet Publishing Group; 2014. p. 1250–63.
7. Välimäki M. Hypogonadismi. In: Välimäki M, Sane T, Dunkel L, editors. Endokrinologia. Duodecim; 2009. p. 632–44.
8. Vehkavaara S. Lääkäriin käsikirja. Miehen hypogonadismi ja hormonikorvaus.
9. H O, M D, T Y, I H, M F, S A, et al. Conventional versus microdissection testicular sperm extraction for nonobstructive azoospermia. J Urol. 2002;168(3).

10. Siddiqui Q ul A, Anjum S, Zahra F, Yousuf SM. Ovarian reserve parameters and response to controlled ovarian stimulation in infertile patients. *Pak J Med Sci*. 2019 Jul 1;35(4):958–62.
11. Tiitinen A. Duodecim. [cited 2021 Feb 10]. Lapsettomuus - Duodecim Oppiportti. Available from: https://www.oppoportti.fi/op/end01706/do?p_haku=ivf#q=ivf
12. Bocca S, Moussavi V, Brugh V, Morshedi M, Stadtmauer L, Oehninger S. ICSI outcomes in men undergoing TESE for azoospermia and impact of maternal age. *Andrologia*. 2017;49(2):e12617.
13. Bonarriba CR, Burgués JP, Vidaña V, Ruiz X, Pizá P. Actas Urológicas Españolas Predictive factors of successful sperm retrieval in azoospermia [Internet]. Vol. 37, Actas Urol Esp. 2013. Available from: www.elsevier.es/actasuro
14. Cito G, Coccia ME, Dabizzi S, Morselli S, Della Camera PA, Cocci A, et al. Relevance of testicular histopathology on prediction of sperm retrieval rates in case of non-obstructive and obstructive azoospermia. *Urologia Journal*. 2018 May 23;85(2):60–7.
15. Gnessi L, Scarselli F, Minasi MG, Mariani S, Lubrano C, Basciani S, et al. Testicular histopathology, semen analysis and FSH, predictive value of sperm retrieval: supportive counseling in case of reoperation after testicular sperm extraction (TESE). *BMC Urol*. 2018 Dec 4;18(1):63.
16. Abdullah L, Bondagji N. Histopathological patterns of testicular biopsy in male infertility: A retrospective study from a tertiary care center in the western part of Saudi Arabia. *Urol Ann*. 2011;3(1):19.
17. Leslie SW, Mejias SG, Ramphul K. Sertoli Cell–Only Syndrome. 2023.
18. Deruyver Y, Vanderschueren D, Van der Aa F. Outcome of microdissection TESE compared with conventional TESE in non-obstructive azoospermia: A systematic review. Vol. 2, *Andrology*. 2014. p. 20–4.
19. Liu Y, Wang G, Zhang F, Liang Dai |. Correlation between serum levels of reproductive hormones and testicular spermatogenic function in men with azoospermia. 2022 [cited 2023 Nov 9]; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/and.14546>
20. Banerjee K, Singla B, Agria K. Correlation of Serum FSH and Rate of Testicular Sperm Retrieval in Non-Obstructive Azoospermia. *Indian J Endocrinol Metab*. 2023 Mar 1;27(2):167–9.
21. Aaltonen K, Hero M, Perheentupa A. KATSAUS Klinefelterin oireyhtymä. Vol. 139, *Duodecim*. 2023.
22. Kailash Y, Raheem AA, Homa ST. How Successful Is Surgical Sperm Retrieval in Klinefelter Syndrome? *Frontiers in Reproductive Health*. 2021 Feb 18;3.
23. Baker K, Sabanegh E. Obstructive azoospermia: Reconstructive techniques and results. Vol. 68, *Clinics*. 2013. p. 61–73.
24. Almekaty K, Zahran MH, Eid A, Ralph D, Rashed A. Azoospermia and Sperm Retrieval in Post-Pubertal Testicular Torsion; Benefits and limitations. *Urology*. 2023 Jan 1;171:121–6.
25. Jacobsen FM, Rudlang TM, Fode M, Østergren PB, Sønksen J, Ohl DA, et al. The Impact of Testicular Torsion on Testicular Function. *World J Mens Health*. 2020;38(3):298.
26. Kordzadeh A, Liu MO, Jayanthi N V. Male infertility following inguinal hernia repair: a systematic review and pooled analysis. *Hernia*. 2017 Feb 3;21(1):1–7.

27. Okada K, Fujisawa M. Recovery of Spermatogenesis Following Cancer Treatment with Cytotoxic Chemotherapy and Radiotherapy. *World J Mens Health*. 2019;37(2):166.
28. Hsiao W, Stahl PJ, Osterberg EC, Nejat E, Palermo GD, Rosenwaks Z, et al. Successful treatment of postchemotherapy azoospermia with microsurgical testicular sperm extraction: The weill cornell experience. *Journal of Clinical Oncology*. 2011 Apr 20;29(12):1607–11.
29. Jefferys A, Siassakos D, Wardle P. The management of retrograde ejaculation: a systematic review and update. *Fertil Steril*. 2012 Feb;97(2).
30. Bocca S, Moussavi V, Brugh V, Morshedi M, Stadtmauer L, Oehninger S. ICSI outcomes in men undergoing TESE for azoospermia and impact of maternal age. *Andrologia*. 2017 Mar 1;49(2).
31. Buffat C, Patrat C, Merlet F, Guibert J, Epelboin S, Thiounn N, et al. ICSI outcomes in obstructive azoospermia: influence of the origin of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. *Human Reproduction*. 2006 Apr 1;21(4):1018–24.
32. Vloeberghs V, Verheyen G, Haentjens P, Goossens A, Polyzos NP, Tournaye H. How successful is TESE-ICSI in couples with non-obstructive azoospermia? *Human Reproduction*. 2015 Aug;30(8):1790–6.
33. Valerie U, De Brucker S, De Brucker M, Vloeberghs V, Drakopoulos P, Santos-Ribeiro S, et al. Pregnancy after vasectomy: Surgical reversal or assisted reproduction? *Human Reproduction*. 2018 Jul 1;33(7):1218–27.