

TESTİS BİOPSİLERİNİN JOHNSEN SKORLAMASI İLE DEĞERLENDİRİLMESİNİN ÖNEMİ

THE IMPORTANCE OF EVALUATING TESTIS BIOPSIES WITH JOHNSENS'S SCORE

AKKUŞ, E.*, UYGUN, N.**, ÖZKARA, H.*, ALICI, B.*, TOKSÖZ, T.**, HATTAT H.*

ÖZET

Amaç: Erkek infertilitesi tanısı araştırmasında önemli bir yeri olan testis biopsisinin azospermik hastalarda değerlendirilmesi ve klinik uygulamadaki rolünün Johnsen skorlaması ile incelenmesi amaçlandı. Ayrıca serum FSH düzeyleri ile testis biopsisi arasındaki bağıntı araştırıldı.

Materyal-Metod: Testis biopsisi uygulanan 114 azospermi olgusu kalitatif değerlendirmeye ek olarak Johnsen skorlaması yöntemiyle kantitatif olarak da değerlendirildi. Doksan olguda bilateral, 24 olguda unilateral toplam 204 biopsi incelendi. Testis biopsileri 102 olguda lokal, 12 olguda ise genel anestezi altında açık biopsi (pencere tekniği) ile yapıldı. Tüm olguların serum FSH düzeyleri araştırıldı.

Bulgular: Johnsen skorlamasına göre 22 olgu 1.2-1.9, 48 olgu 2-3.9, 38 olgu 4-5.9, 29 olgu 6-7.9, 31 olgu 8-9, 36 olgu da 9-10 arasında yer aldı. Johnsen skoru ortalama 3.1 iken normal hacimli testislerde bu ortalama 6.8 idi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.001$). Serum FSH düzeyleri ile Johnsen skorları arasında negative korelasyon belirlendi ($p<0.001$).

Sonuç: Azospermiye bağlı infertilite olgularının teşhisinde önemli bir yeri olan testis biopsisinin kalitatif yöntemlerle olduğu kadar Johnsen skorlaması gibi kantitatif yöntemlerle de değerlendirmesinin de teşhisin etkinliğini artıracığı ve tedavide de yönlendirici olacağı inancındayız.

SUMMARY

Aim: The purpose of the study was to investigate the quantitative analysis of testicular biopsies with Johnsen score system in azoospermic cases. Also correlation of FSH levels and testis biopsies was determined.

Material and Method: 114 azoospermic cases who have undergone testis biopsies were evaluated quantitatively according to Johnsen's score method in addition to qualitative analysis. Unilateral biopsies in 24 cases and bilateral testis biopsies in 90, a total of 204 biopsies were evaluated. Open biopsies (window technique) were performed under local anesthesia in 102 cases and general anesthesia in 12 cases. Serum FSH levels were investigated in all cases.

Results: Twenty two cases were between 1.2-1.9, 48 cases 2-3.9, 38 cases 4-5.9, 29 cases 6-7.9, 31 cases 8-9 and 36 cases were between 9-10 according to Johnsen's score. Mean Johnsen's score was 3.1 in hypoplastic testes and 6.8 in normal volume testes. This difference was statistically significant ($p<0.001$). Negative correlation was determined between FSH levels and Johnsen scores ($p<0.001$).

Conclusion: In our opinion testis biopsies which have an important role in the diagnosis of male infertility due to azoospermia, should not only be evaluated qualitatively but also quantitatively as in Johnsen's score method. This will influence the diagnosis and help to determine the method of treatment.

ANAHTAR KELİMELER: Testis, biopsi, azospermi

KEY WORDS: Testis, biopsy, azoospermia

*Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı ve İnfertilite Araştırma Merkezi

** Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı

GİRİŞ

Erkek infertilitesinin teşhis araştırmasında, anamnez, fizik muayene ve laboratuvar tetkiklerinin sonucunda testis biopsisi önemli bir yer tutmaktadır. Charney 1940'da testis biopsisinin infertilitedeki önemini açıklayan ilk araştırmacıdır.¹ O tarihten bu yana testis biopsisi ile ilgili edinilen tecrübeler gerek endikasyonları, gerek tekniği, gerek de sonuçlarının yorumlanmasında değişiklikler ve yenilikler getirmiştir. Testis biopsisi infertilite araştırmasında rutin olmayıp belirli bir hasta grubu için uygulanabilen bir yöntemdir. Genellikle testis boyutları ve volümü normal olan azospermik veya şiddetli oligospermik infertil erkek olgularda testis biopsisi uygulanır. Bundaki amaç özellikle epididim veya vas deferensteki bir obstrüksiyon nedeniyle gelişen azospermiye karşın testiste spermiogenezin normal olup olmadığının araştırılmasıdır.

Testis biopsisinin histopatolojik değerlendirilmesinde spermatogenezin kalitatif değerlendirilmesiyle birlikte kantitatif değerlendirmesinin de yapılması gerekliliği Johnsen tarafından ortaya konmuştur.² Bu yöntemle germ hücrelerinin durumu kantitatif olarak da incelenmiş ve klinikte uygulanan skorlama yöntemi ortaya konmuştur. Benzeri başka kantitatif skorlama yöntemleri de daha sonraları geliştirilmiştir.³⁻⁵

Bu çalışmada erkek infertilitesi araştırmasında testis biopsisi uyguladığımız olguları Johnsen skorlaması ile değerlendirerek klinik uygulamadaki yerinin incelenmesi amaçlandı. Ayrıca serum FSH düzeyleri ile testis biopsisinin Johnsen skorlarıyla olan bağıntısı araştırıldı.

YÖNTEM VE GEREÇ

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Kliniği ve İnfrtilite Araştırma Merkezi'ne infertilite yakınlığı ile başvuran ve yapılan klinik ve laboratuvar tetkikleri sonucu azospermi saptanarak testis biopsisi uygulanan 114 olgu çalışma kapsamına alındı. Doksan olguda bilateral, 24 olguda unilateral toplam 204 adet testis biopsisi değerlendirildi. Unilateral testis biopsisi, ya bilateral hipoplazik testisi olan olgularda testislerden birine veya testislerinden biri normal diğeri atrofik veya orşiektomize olanlarda normal testise uygulandı.

Testis biopsileri 102 olguda lokal anestezi, 12

olguda ise genel anestezi altında açık biopsi (window technique) yöntemiyle yapıldı. Biopsi materyalleri Bouin solüsyonunda histopatolojik değerlendirme için patoloji laboratuvarına gönderildi. Burada rutin işlemlerden geçirilip Hematoksilen Eosin (HE) ile boyanarak hazırlandı. Bazal membran kalınlaşmasını saptamak için PAS, peritubuler ve interstisyel fibrozisi belirlemek için de Trikrom Masson boyası uygulandı. Hazırlanan biopsi preparatları mikroskop altında en az 50 tubulus incelenerek germ hücre matürasyon derecesi bakımından Johnsen skorlamasına tabi tutuldu. Johnsen skorlamasına göre 1-10 arasındaki kriterler şu şekilde değerlendirildi: 1- Tubulus içinde hiç hücre yok (oblitere tubulus), 2- Germ hücresi yok sadece sertoli hücreleri var, 3- Germ hücresi olarak sadece spermatogonia var, 4- Spermatozoa, spermatid yok, 5'den az sayıda spermatozoid var, 5- Spermatozoa, spermatid yok, 5'den fazla sayıda spermatozoid var, 6- Az sayıda spermatid var, spermatozoa yok, 7- Çok sayıda spermatid var, spermatozoa yok, 8- Germinal epitel kalın ancak spermatozoa sayıca 10'dan az, 9- Spermatozoidler tam ancak epitelde disorganizasyon ve lumene dökülme var, 10- Komplet spermatozoidler, germinal epitel kalın ve çok sayıda spermatozoa izleniyor.

Her tubulus nümerik değeri toplanarak toplam tubulus sayısına bölündüğünde total Johnsen skoru ortaya çıkmaktadır.

Fizik muayenede testisleri hipoplazik olarak değerlendirilen azospermik olgulara da hipoplazik testislerde biopsi ve olası beklenen sonuçlar hakkında bilgi verilip onayları alındıktan sonra biopsi uygulandı. Atrofik testislere testis biopsisi uygulanmadı. Bilateral testis biopsisi yapılan olgularda sağ ve sol testisler Johnsen skorlamasıyla karşılaştırıldı. Laboratuvar parametre olarak serum FSH değerleri ile Johnsen skoru arasındaki bağıntı değerlendirildi. FSH değerleri normal olanlar 1 kabul edildi, normalin üstündeki değerler, 1-1.5 kat, 1.5-2 kat, 2 katın üstü olarak ayrıldı. Bulgular istatistiki yönden Pearson metodu ve t testi ile değerlendirildi.

BULGULAR

Testis biopsisi uygulanan 114 olgunun yaş ortalaması 31.2 (19-48 arası) olarak belirlendi. Biopsi uygulanan 204 testisin 17'sinde (%8.3) testis-

Tablo I. Testis biopsilerinin Johnsen skoruna göre dağılımı

Johnsen skoru	Testis biopsi sayısı	%
0 - 1.9	22	10.8
2 - 3.9	48	23.5
4 - 5.9	38	18.7
6 - 7.9	29	14.2
8 - 9	31	15.1
9 - 10	36	17.7
Toplam	204	100.0

ler fizik muayenede hipoplazik bulundu. 187 testis fizik muayenede normal olarak değerlendirildi.

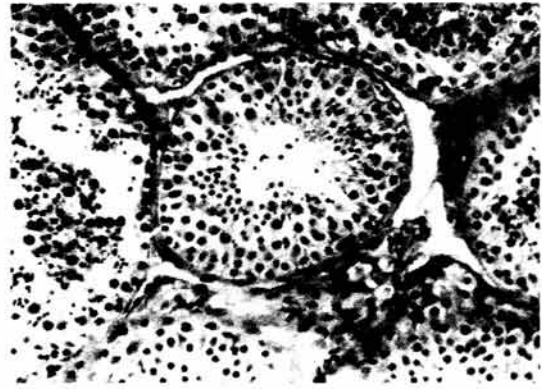
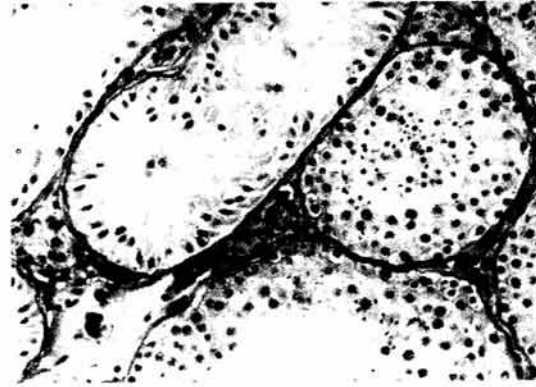
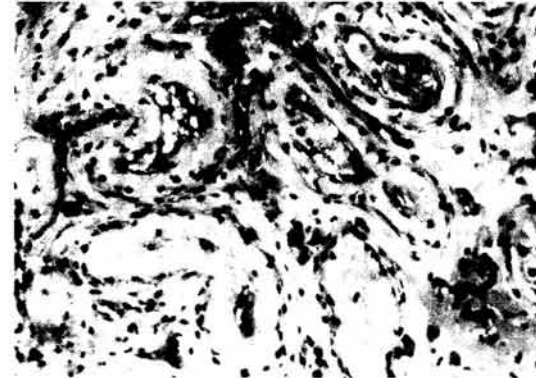
Johnsen kriterlerine göre olgularımız içinde skorlamada en yüksek değer 10, en düşük ise 1.2 olarak bulundu. Olgularımızın tümünde Johnsen skor ortalaması 6.9 olarak saptandı. Olguların Johnsen skorlamasına göre dağılımı şu şekilde oldu. 1.2-1.9 arası 22 olgu, 2-3.9 arası 48, 4-5.9 arası 38, 6-7.9 arası 29, 8-9 arası 31, 9-10 arası 36 olgu (Tablo I). Johnsen skoru 10 olan normal spermiogenezli bir olgu Resim 1'de, Johnsen skoru 5.3 olan bir olgu Resim 2'de, Johnsen skoru 1.7 olan başka bir olgu Resim 3'de görülmektedir. Testis biopsisi bilateral incelenen olgularda sağ testis ortalama Johnsen skoru 5.8, sol testis ise 5.6 idi. Bu değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

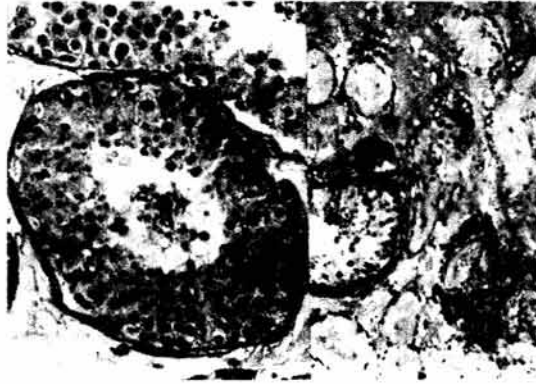
Bilateral testis biopsisi uygulanan 90 olguda sağ ve sol testis Johnsen skorları arasındaki farkların ortalaması 1.2 idi. Bu farkın 4.4 ve üzerinde olduğu olgularda bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Bu şekilde olan 12 olgu (%13.3) saptandı.

Fizik muayenede hipoplazi saptanan testislerin biopsi ortalaması Johnsen skoru 3.1 (1.2-6.2 arası) iken normal testislerdeki ortalama 6.8 (2.8-10 arası) idi ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Tablo II. Olguların FSH düzeyleri ve Johnsen skorlamasının karşılaştırılması

FSH	Olgu Sayısı	%	Johnsen skoru ortalaması
Normal	66	57.9	6.8(2.8-10)
1-1.5 kat artmış	20	17.6	5.4(2.6-9.2)
1.5-2 kat artmış	16	14.0	4.6(2.4-8.6)
>2 kat artmış	12	10.5	3.8(1.2-8.3)
Toplam	114	100	

**Resim 1.** Normal spermatogenez: Tubulus lumeninde spermatozoa düzeyine ulaşan maturasyon. Johnsen skoru: 10 (H.E X200)**Resim 2.** Farklı tubulus özellikleri gösteren bir biopsi örneği. Tubulusların bazıları sadece sertoli hücreleri ile döşeli iken bazılarında spermatozoa düzeyine ulaşan spermatogenez mevcut. Johnsen skoru: 5.3 (H.E. X200)**Resim 3.** Tubulusların bazıları hyalinize, diğerlerinin çapları çok küçük, bazal membranlar oldukça kalın ve lumenlerinde sadece sertoli hücreleri mevcut. Johnsen skoru: 1.7 (H.E. X200)



Resim 4. Bilateral biopsi yapılmış bir olguda sağ ve sol testisin farklı görünümü: Sağda azalmış olmakla birlikte spermatozoa düzeyine ulaşan spermatogenez mevcut iken solda atrofi bulguları görülmekte. Johnsen skoru: Sağ: 8.6, Sol: 1.2. (H.E. X200)

Testis biopsisi yapılan 114 olgunun 66'sında (%57.9) FSH değerleri normal iken, FSH'un 1-1.5 kat arttığı 20 (%17.5), 1.5-2 kat arttığı 16 (%14), 2 katından fazla arttığı 12 (%10.5) olgu bulunmaktaydı (Tablo II).

FSH ile Johnsen skorlamasına göre değerlendirilen spermatogenez arasında negative korelasyon saptandı ($r=-0.4$, $p<0.001$) ($r=-0.4$).

TARTIŞMA

Azospermi nedeniyle infertil olan bir kişinin bu durumunun öncelikle testiküler yetmezlikten mi veya kanallardaki bir obstrüksiyondan mı kaynaklandığını belirlemek gereklidir. Bu, tedavinin şeklini ve etkinliğini de belirlemede en önemli faktördür. Ciddi bir intrensek testiküler patoloji veya yetmezlik durumunda tedavi şansı çok sınırlı olmasına karşın, obstrüksiyona bağlı azospermi ile mikrocerrahi reanastomozlar veya transüretal rezeksiyon ile tedaviye yanıt alınma olasılığı artmaktadır. Bu yüzden de testis biopsisinin önemi tartışılmazdır. Ancak testis biopsisinin histopatolojik değerlendirmesinde tanının kalitatif kriterlere bağlı kalınarak yapılması klinisyenlerin biopsi sonucunu yorumlamasında zorlukla karşılaşmasına neden olmaktadır. Bu nedenle de testis biopsisinin kantitatif yöntemlerle de değerlendirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır.

İnfertilitenin kantitatif analizinde iki ana parametre rol oynar. Birincisi germ hücrelerinin durumudur. Johnsen sadece germ hücrelerini değerlen-

dirip bunların her tubulustaki en yüksek matürasyondaki hücre tipi ve sayısına göre skorlama yapmıştır.² İkinci parametre ise tubulus çapı, bazal membran kalınlığı, tubulus içi hücre popülasyonu ve spermatogenez matürasyon dereceleri. Makler bu dört kriteri de kullanmıştır.³ Bunlardan son ikisi germ hücrelerini ilgilendirirken ilk iki kriter germ hücre dışı kriterlerdir. Biz çalışmamızda 114 olguyu Johnsen skorlaması ile değerlendirdik. Johnsen veya Makler skorlaması arasındaki kıyaslamada kuvvetli ve anlamlı korelasyon saptanmıştır.⁶ Johnsen skorunun üstünlüğü daha az parametreye ile sonuca ulaşmasıdır.

Aarlfjes, Johnsen skorunun 9'un üzerinde olduğu olgularda prognozun daha iyi olabileceğini bildirmiştir.⁷ Bizim serimizde 36 (%17) biopsi sonucu Johnsen skoru 9'un üzerindedir. Biz Johnsen skorunun >8.5 olduğu olguları mikrocerrahi epididimovasostomi adayı olara değerlendirdik. Bu olgulardan 28'ine epididimovasostomi uygulandı, 16 olguda patensi, 9 olguda da (%31.5) gebelik saptandı.

Testis biopsisinin unilateral veya bilateral uygulanması konusunda farklı görüşler bulunmaktadır. Meacham, fizik muayenede her iki testis arasında çok belirgin bir farklılık yoksa unilateral biopsinin yeterli olacağı görüşündedir.⁸ Başka bir çalışmada bilateral testis biopsisi sonuçlarında sağ ve sol testiste %32 oranında farklılık saptanmış ve azospermi olgularında bilateral testis biopsisi uygulanması önerilmiştir.⁹ Dubin de yaptığı çalışmada her iki testis arasında anlamlı farklılık gözlenen olguların %10 oranında olduğunu bildirmiştir.¹⁰ Başka bir çalışmada Posinovec unilateral testis biopsisinin teşhis için yeterli olacağını ortaya koydu.¹¹ Bizim serimizde de 12 olguda (%13.3) sağ ve sol testisler Johnsen skorlarıyla değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Bilateral testis biopsisi uygulanan bir olgumuzda fizik muayenede normal bulunan her iki testisin, spermiogenez fonksiyonlarının farklılığı Resim 4'de görülmektedir. Biz de fizik muayenede her iki testis arasında belirgin testiküler asimetri, hipoplazi veya atrofi yoksa testis biopsisinin bilateral yapılmasının daha uygun olduğunu düşünüyoruz. Özellikle de önceden geçirilmiş fitik, hidrosel, varikosel operasyonları sonucu unilateral obstrüksiyon olasılığı durumlarında bilateral testis biopsisinin daha uygun olduğuna inanıyoruz.

Fizik muayenede hipoplazi saptanan testisler ile normal testisler arasındaki Johnsen skor ortalaması arasında belirgin farklılık saptanması, hipoplazik testislerde Johnsen skor ortalamasınının 3.1 gibi çok düşük bir değerde olması, çok istisnai sosyal ve legal endikasyonlar olmadıkça testis biopsisinin hipoplazik testislerde uygulanmasının gereksiz olduğunu düşündürmektedir.

FSH düzeyi ile spermatogenez arasındaki korelasyon konusunda çeşitli görüşler bulunmaktadır. McClure, Howards, Nagler gibi araştırmacılar FSH'nin normalin 1.5-2 katı yükseldiği olgularda testis biopsisi sonucunun irreversible germ hücre harabiyetini göstereceğini bu yüzden de böyle olgularda testis biopsisi endikasyonlarının çok dikkatli seçilmesini önermektedir.¹² Lipshultz ise FSH'nin 3 katına çıktığı bazı olgularda bile 20-30 milyon/ml'ye varan spermogramlar bulunduğunu savunmuş, bu olguların sperm fonksiyonlarında bozukluk saptayarak FSH'ni bu yönünün de düşünümleri gerektiğini belirtmiştir.¹² Trainer da çalışmasında FSH ile sperminogenez arasında negatif ve korelasyon saptamıştır.¹³ Bizim çalışmamızda da FSH'nin 2 katından fazla olduğu 12 olguda Johnsen skorlaması ortalaması 3.8 (1.2-8.3 arası) bulunmuştur. Tüm olgularımız değerlendirildiğinde de FSH ile Johnsen skorları arasında negative korelasyon saptanmıştır. FSH düzeyinin özellikle normalin 2 katından fazla olduğu olgularda testis biopsisi sonuçlarının olumsuz olacağı kanaatindeyiz.

Testis biopsisi değerlendirmesini iyi yapabilmek için biopsi alınır alınmaz Zenker veya Bouin solüsyonuna konması gereklidir. Biopsinin formole konması halinde formolün tubulus yapılarını ve epitelinin bozduğu ve sağlıklı bir değerlendirme yapılamadığı bilinmektedir.^{14,15} Biz de biopsileri Bouin solüsyonuna koyduktan sonra histopatolojik değerlendirmeye gönderdik.

Testis biopsisi, açık cerrahi (pencere tekniği), iğne biopsisi, aspirasyon biopsisi veya "touch imprint" yöntemleriyle yapılabilir. Biz tüm olgularımıza "pencere tekniği" ile açık cerrahi biopsi uyguladık.

Testis biopsisini genellikle lokal anestezi ile kolaylıkla uygulamak mümkündür. Ancak, bazı olgularda özellikle operasyon anksietesi nedeniyle genel anestezi altında biopsi yapılabilir. Bizim de 114 olgumuzun 12'sinde (10.5) testis biopsisi

için genel anestezi uygulandı. Diğer olguların biopsileri lokal anestezi altında yapıldı.

Sonuç olarak infertilite teşhisinde azospermi olgularında fizik muayene ve laboratuvar bulguları doğrultusunda uygulanacak olan testis biopsisinin, tanı ve tedaviye yönelmedeki rolünün çok belirgin olduğuna inanıyoruz. Testis biopsisinin kalitatif yöntemlerle olduğu kadar Johnsen skorlaması gibi kantitatif yöntemlerle de değerlendirilmesinin teşhisin etkinliğini güçlendireceği gibi tedavide de özellikle epididimosostomi endikasyonunda yönlendirici olacağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

- 1) Charny, C.W.: Testicular biopsy: its value in male sterility. JAMA 115:1429-1432, 1940.
- 2) Johnsen, S.G.: Testicular biopsy score count-a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones 1:2-25, 1970.
- 3) Makler, A., Abramovici, H.: The correlation between sperm count and testicular biopsy using a new scoring system. Int. J. Fertil. 23:300-305, 1978.
- 4) Honore, L.H.: Testicular biopsy for infertility. A review of 68 cases with a simplified histological classification of lesions. Int. J. Fertil. 24:49-53, 1979.
- 5) Silber, S.J., Rodriguez-Rigua, L.J.: Quantitative analysis of testicle biopsy: determination of partial obstruction and prediction of sperm count after surgery for obstruction. Fertil Steril. 36:480-485, 1981.
- 6) Toksöz, T.: Infertilitede testis biopsilerine kantitatif yaklaşım: Skorlama ve flow sitometri. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 1994.
- 7) Aafyes, J.H.: Value of a testicular biopsy rating for prognosis in oligozoospermia. Br. Med. J. 1:289-292, 1978.
- 8) Meacham, R.B.: Testis biopsy augments the infertility workup. Contemp. Urol. March 63-70, 1992.
- 9) Krause, I., Vasquez-Levin, M.: The role of bilateral testicular biopsies in the evaluation of infertile males. Annual Meeting of American Fertility Society 1: 11, 1992
- 10) Dubin, L., Amalear, D.R.: 986 cases of varicocele. Urology 10: 446-450, 1977.
- 11) Posinovec, J.: The necessity for bilateral biopsy in oligo and azoospermia. Int. J. Fertil. 21:189-191, 1976.
- 12) Lipshultz, L.I., Howards, S.S., McClure, D.R., Nagler, H.M.: When and how to do a testis biopsy and vasogram. Contemp. Urol. Symposium July/August 45-53, 1990.
- 13) Trainer, T.D.: Histology of normal testis. Am. J. Surg. Pathol. 10: 797-80, 1987.
- 14) Costabile, R.: History and physical exam of the infertile male. In: Evaluation and Management of the Infertile Male. What's New and What's Important Dir. Marc. Goldstein. AUA 89th Annual Meeting, pp. 9-15, 1994.
- 15) Schlegel, P.N.: Surgical treatment of male infertility. In: Advances in the evaluation and management of the infertile male. Dir. Larry Lipshultz AUA 89th Annual Meeting, pp. 26-37, 1994.