

## Testis tümörlü olgularda fertilitenin korunması

Prof. Dr. Barış Altay, Dr. Emir Akıncıoğlu  
Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi, Üroloji AD

Testis tümörü 15-35 yaş arası erkeklerden en sık rastlanan “solid” organ tümörüdür. Onkolojide tedavi edilebilir kanser modeli oluşturmuştur. Metastatik hastalık da dahil olmak üzere %85-95 hasta hastalıktan tam anlamıyla kurtulabilir. Testis tümörlerinde cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, izlem gibi çeşitli tedavi şekilleri bulunmaktadır. Tedavide sağkalım dışında “en az toksisite” ve “en yüksek hayat kalitesi” de hedeflenmelidir.

Testis tümörünün genç yaşlarda görülebilmesi ve kür şansının yüksek olması göz önüne alındığında, tedavi ve sonrası dönemdeki en önemli problemlerden biri olan infertilitenin de iyi yönetilmesinin gerekliliği açıkça ortaya çıkmaktadır. Testis kanseri sonrası 15 yıllık süreçte, baba olma isteği yapılan çalışmalarda %70 oranında gösterilmektedir (1). Bu sebeple infertilite aşılması gereken önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

### Testis tümörüne bağlı sperm parametreleri neden bozulur?

### Tedavi öncesi infertiliteyi kolaylaştıran etmenler nelerdir?

Testis tümörü saptanan erkeklerde spermioqramda bozukluklar gözlenmektedir. Patogeneze bakıldığında birçok faktörün bu duruma neden olabileceği görülebilir. Testis kanserli olgularda hem doğumsal anomaliler (inmemiş testis gibi anormal testis gelişimi) hem de anne karındaki dönemde maruz kalınan hormonal ajanlar sperm parametrelerini bozabilir (2). Kanser hüresinden salınan interlökin ve TNF gibi sitokin ve mediatörlerin sistemik etkisi sebebiyle de hastaların sperm kalitesinde düşüş meydana gelebilir. Testis tümörü nedeniyle orşiektomi yapılan olgularda yapılan bir çalışmada germ hücreli tümöre komşu alanlarda spermatogenezin bozulmuş olduğu görülmüş, malign kitleden salgılanan başta “survivin” olmak üzere apoptozis inhibitörleri bu durumdan sorumlu tutulmuştur (3). Ayrıca kanser hücrelerinin sistemik etkile-

ri dışında lokal olarak kan-testis bariyerinin bozulması da sebepler arasında yer alır. Bunun sonucu hastanın kendi spermilerine karşı oto-antikör oluştur ve infertilitenin görülmesi kolaylaşır (4). Tümöre bağlı salınan AFP, hCG gibi hormonlar diğer nedenler arasındadır (5). Testiküler disgenезi üzerinde durulması gereken bir diğer durumdur. İn-utero dönemde hormonal değişikliklere bağlı testiküler embriyolojik gelişimde ortaya çıkan farklılıklar, normal primordial germ hücre yapısında farklılıklara yol açmaktadır. Buna bağlı olarak testis kanseri ile birlikte sperm parametrelerinde bozukluklar ortaya çıkmaktadır (6).

Genel olarak testis tümörlü hastalarda sperm parametreleri incelendiğinde tanı anında hastaların %10'unun azospermik olduğu görülür. Azospermi olmayan hastalarda ise radikal orşiektomi sonrası ilk bir kaç ayda sperm miktarı yüzde 50 azalır. Aynı şekilde KT sonrasında ilk 3 ayda, RT sonrasında ise ilk 6 ayda sperm sayılarında belirgin düşüş gözlenmektedir (7). Testis tümörlü erkeklerde semen kalitesinin neden bozulabileceğini anlayabilmek için spermatogenezin nükleer ve sitoplazmik komponentleri de araştırma konusu olmuştur. Testis tümörü tanılı 28, infertil oligospermili 20 ve normozoospermi saptanan 20 olmak üzere toplam 68 erkek bulunduran bir çalışmada semen kalitesi ve fertilité potansiyeli üzerine etkilerini bilinen hyarülonik asit bağlanma kapasitesi, anöploid ve persistant histonlar incelenmiştir (8). Spermin hyarülonik asit bağlanma testi ve anilin mavi testi ile matürasyonunun değerlendirildiği bu çalışmada, testis tümörlü olgularda sperm sayısı ve hyalüronik asit bağlanma testi düşük iken, anilin mavi ile boyanma daha fazla (immatür hücrelerden dolayı) bulunmuştur. Ancak seks kromozom dizomi, total diploidi ve sayısal kromozomal aberasyonlar açısından fark gözlenmemiştir. Sperm konsantrasyonu testis tümörlü erkeklerde daha düşük görülürken bunun intratestiküler sebepli olabileceği gibi çevresel etmen kökenli (stres vb.) de olabileceği düşünülmüştür. Ancak sperm konsantras-

yonu ile hyalüronik asit bağlanma kapasitesi arasında ilişki bulunmamış olması sperm konsantrasyonunun fertilitite potansiyelini etkilemeyebileceğini düşündürmüştür. Başta mRNA olmak üzere çeşitli moleküler komponentlerin ölçülmesi ileride reproduktif hasarın ortaya konmasında yardımcı olabilir.

### **Kemoterapi-radyoterapi ve infertilite ilişkisi**

Erkek germ hücreleri kemoterapötik ajanlara oldukça hassastır. Pek çok kemoterapötik ajan kan-testis bariyerini geçerek germ hücrelerde kalıcı hasara yol açabilir (intersitisiyel dokularda hyalinizasyon ve fibrozis ile). Meydana gelen hasar doz ve süre ile de yakından ilişkilidir. Ayrıca her kemoterapötik ajanın da zarar verebileceği maksimum eşik dozlar da farklıdır. Kanser kemoterapisinde sık kullanılan bir ajan olan sisplatin için kritik olarak gözüken kümülatif doz aralığı <400 mg/m<sup>2</sup> ile >600 mg/m<sup>2</sup> olarak bildirilmiştir. Tedavide <400 mg/m<sup>2</sup> dozunda ajanın kullanımı sonrası 2. yılda spermatogenezin başladığı rapor edilirken, >600 mg/m<sup>2</sup> doz alanlarda 8.yılın sonunda bile %50 oranında azosperminin devam ettiği bildirilmiştir (9). Düşük doz sisplatinin sadece spermatogoniumları, yüksek doz sisplatinin ise spermatogenezin tüm basamaklarını etkilediği gösterilmiştir (10). Alkile edici ajanlar (siklofosamid), özellikle germinal epitele zararlıdır ve geç spermatogenez evresindeki DNA tamir mekanizmasını bozarak etkili olur (11). Siklofosamid içeren kemoterapotik ajanlarla tedavi edilen lenfomalı hastaların %35-100'ünde uzun süreli azospermi görülebilir. Spermatogenezin normale dönmesi yine yaklaşık 2 yıl sürmektedir.

Kromozomal olarak defektif yapıda spermler, kemoterapi ile birlikte artmaktadır. Ancak uzun dönemde tartışmalı olmakla beraber, %8 oranında seks kromozonlarında yapısal bozukluk bildirilmektedir. Dolayısıyla kemoterapi öncesi dondurulacak semen örneği ile bu hasarlar minimize edilebilir veya kemoterapi sonrası 12-24 ay sonra hamilelik planlanmalıdır. Kemoterapiye bağlı testisteki hasarı önlemeye yönelik uygulanan deneysel modellerde GnRh agonistleri ile non-steroid androjenler veya testosteron ile estradiol kullanılmış, ancak insanda yapılan benzer uygulamaların klinik yararı gözlenmemiştir. Çünkü verilen hormonoterapi spermatogenezisi baskımlarken, gelişen hücrelerin kinetiğine ait etkisi yoktur (12). Dolayısıyla, günümüzde kemoterapiye bağlı yan etkileri azaltmak için kullanılan herhangi bir protokol kabul görmemiştir.

Radyoterapi sonrası spermatogenez 0.1-1.2Gy dozları arasında etkilenir. Eğer doz 4Gy'den yüksek ise kalıcı hasar oluşur. Leydig hücreler ise doz>30Gy olduğu durumlarda bile canlılığını korur. Yeni radyoterapi teknikleri ile 1Gy<doz ile spermatogenez 9-18 ay arası, doz 2-3Gy ise 30 ay içinde düzelmeye başlar. Sperm DNA hasarı özellikle ilk 6 ayda belirgindir (13). Özellikle doz değerlendirmesi yaparken, fraksiyone dozlarla yapılan radoterapiye bağlı hasar daha fazla olmaktadır. Total gonadal doz>2.5 Gy (fraksiyone) ile Doz>6 Gy (tek doz) uygulamayı göre kalıcı azospermi gelişim riski daha fazladır (14).

Günümüzde testis kanseri tedavisi sonrasında fertilitte açısından güvenilir olabilecek belirteç arayışları sürmektedir. Bu anlamda İnhibin B diğer belirteçlere göre öne çıkmaktadır. İsveç'te yapılan 119 hastalık çalışmada, orşiektomi sonrası ejakülatta sperm varlığı saptanan olgularda, serum inhibin düzeyleri farklı zamanlarda (6-12 ve 36. aylarda) ölçülerek, adjuvan tedaviler sonrası sperm üretimi değerlendirilmiştir. Takipte 12. ay sonunda serum inhibin B>56ng/L değeri saptanan erkeklerin tamamında 3. yıl sonunda ejakülatta sperm varlığı gösterilmiştir (15).

### **Fertiliteye yönelik seçenekler-kriyoprezervasyon**

Testis tümöründe fertilitenin korunması/sağlanması için bazı seçenekler mevcuttur. Bunlardan başlıcaları kriyoprezervasyon ve Onko-TESE'dir. Ayrıca RT ve KT'de alternatif modeller ve/veya spermatogenezin korunmasına yönelik önlemler değerlendirilmelidir.

Kriyoprezervasyon gonadotoksik tedavi öncesi tercih edilen metodlardan biridir. Sperm örnekleri IVF, IUI veya ICSI için kullanılabilir. Tüm erişkin ve post-pubertal erkeklerle tedavi öncesinde önerilebilir. Bununla beraber klinik uygulamada bazı zorluklar yaşanabilir. Yeterince hasta bilgilendirilmesinin yapılmaması, tanı ve gerekli tedaviye başlama süresinin kısıtlı olması nedeniyle yaşanan aksamlar, anksiyeteye bağlı ereksiyon ve ejakülasyon güçlüğü yaşanabilecek problemlerdir. Kriyoprezervasyon için dimetil sülfoksid kullanımı, spermatogonia, Sertoli hücre ve stromal içeriğin korunmasında etkili bulunmuştur. Gliserol, buz kristal oluşumunu önlemek için kriyoprotektan olarak kullanılabilir, ancak spermatozoaya zarar verebileceği için, çözülme sırasında ortamdan hızlıca alınmalıdır (16).

Kriyoprezervasyon pre-pubertal dönemde uygulanacaksa bazı zorluklar yaşanabilir. Semen dışında testiküler dokunun özellikle prepubertal dönemde dondurulması

aşamasında hücreler arası ve tübül yapılarında bozulmalar gözlemlenmektedir. Bu dönemde post-mayotik germ hücrelerin dokuda bulunmaması başlıca klinik zorluktur. Yapılan çalışmalarda germ hücrelerinin, dondurulmuş doku süspansiyonlarına transplantasyonu sonrası yeniden gonadotoksik tedavi sonrası testise infüze edilmesi; spermatozoanın spermatogonial kök hücrelerden in-vitro diferansiasyon sonrası elde edilmesi; immatür dondurulmuş testiküler dokunun başka bir canlıya transferi sonrası, diferansiasyon tamamlanınca taşıyıcı dokudan yeniden alınması denetlenmektedir. Kriyoprezervasyon işleminin kendisine ait risklere bakıldığında ise kanser hücreleri ile kontaminasyon riski (kök hücreler seçilirken yaşanan zorluğa bağlı), enfeksiyon riski (hayvan-insan modellerinde) ve etik sorunlar (prepubertal dönemde testisten örneklemeye) öne çıkmaktadır (17). Ayrıca uygulanan tedavilere bağlı spermatogonial kök hücreler zarar görür ise, fertilité şansı belirgin şekilde azalmaktadır. Çünkü spermatogonial kök hücreler postnatal dönemde kendini yenileyebilen hücre özelliğindedir.

Prepubertal erkek hastaların ileride karşılabilecekleri olası infertilite sorunundan korumak için alınacak taze testis dokusundan greftleme sonrası spermatogenez eldesi fikri gündeme gelmiştir. Bu sebeple otolog ektoptik greftleme hayvan modellerinde denenmiştir. Prepubertal dönemde orşiektomi ve radyoterapi uygulanan 5 maymundan alınan testiküler doku örnekleri, skrotum, omuz ve kol bölgelerine subkutanöz olarak fragmanlar halinde yerleştirilmiştir. Beş ay sonra otolog ektoptik greftleme sonrası alınan örneklerde, genel olarak pakiten spermatozoid evresini geçmediği gözlenmiştir. Farklı greft alanlarından alınan doku örneklerinin yaklaşık %5'inde aktif testiküler dokuya rastlanılmış ve spermatozoa düzeyinde hücre elde edilmiştir (18). Bu sonuca göre testis dokusundan kriyoprezervasyon ile alınan örnekten tam anlamıyla işlev gören spermatogonyaya elde etmek mümkün olabilir.

### **Fertiliteye yönelik seçenekler - OnkoTESE**

Semen analizi yapılma imkanı olan ve azospermi saptanan hastada orşiektomi anında kontralateral testisten, biyopsi alınması ve dokunun kriyoprezervasyonu önerilen yaklaşımlardan birisidir. Onko-TESE olarak anılmaktadır (19). Fertilité açısından olumlu sonuçlar bildirilmiştir (20). Özellikle tedavi öncesinde azospermi saptanan hastalarda fertilité açısından şans olabilmektedir (21). Hastanın

ejekülasyon ile sperm veremediği diğer tüm durumlarda da TESE/TESA gibi cerrahi yöntemler kullanılabilir. Ayrıca kemoterapi tedavisi sonrasında da TESE ile fertilizasyon elde etme yüzdeleri azımsanmayacak düzeydedir. Yapılan çalışmalarda %22 ile %53 oranında canlı doğum oranları bildirilmiştir (22). Hangi hastaların TESE için daha uygun olduğunu ortaya koymak üzere, tümör özellikleri ve TESE başarısı arasında ilişki retrospektif olarak irdelenmiş; 83 testis tümörü tanılı (41 seminom, 36 non-seminomatöz, 6 benign) hastada yapılan değerlendirmede, %62 oranında spermatogenezin olduğu görülmüştür. Pür seminom ve non-seminöz ile mikst germ hücreli tümörler karşılaştırıldığında spermatogenez arasında fark görülmemiştir. AFP- HCG değerleri ile spermatogenez açısından ilişki gösterilememiştir. Bu sonuca göre hastalara Onko-TESE önerilirken tümörün histopatolojik özellikleri veya markerların serum seviyelerini dikkate almaya gerek olmadığı yorumu yapılabilir. Çalışmada elde edilen veriden çıkarılan bir diğer sonuca göreyse, küçük tümör çapı ile başarı daha yüksektir, büyük tm çapı (>4cm) saptananlarda sperm bulma şansı devam etmekte olsa da tümör çapı büyüdükçe spermatogenezin azaldığı bildirilmiştir (23).

### **Fertiliteye yönelik seçenekler – Organ koruyucu cerrahi**

Mikro cerrahi yöntemle organ koruyucu tümör rezeksiyonu özellikle soliter testisli olgularda, organ korumaya yönelik, USG rehberliğinde, testisin 12-15 derece arasında soğutulduğu, mikroskop yardımıyla yapılan bir yöntemdir. Bu uygulamanın yapılmasının önerildiği durumlar: Tümörün 20mm'den küçük olması, rete testis infiltrasyonu olmaması, tümör yatağından multipl biyopsi yapılabilmesi, adjuvan lokal radyoterapi ile CIS riskinin azaltılabileceği olgular bunlardan bazılarıdır. Her ne kadar yapılan çalışmalar, karşı sağlam testis varlığında organ koruyucu cerrahi desteklemese de, benign patoloji düşünülen, ultrason ve tümör markerları ile desteklenen infertil olgularda uygulanabilmektedir (24).

### **Testis tümöründe fertilité açısından genel önlemler ve dikkat edilecekler**

Testis tümürlü olgularda kanser tedavisinden sonra en erken 12. aydan itibaren, çocuk sahibi olma planları başlatılmalıdır. Günümüzdeki koşullar ve güncel literatür değerlendirildiğinde kanser tedavisi öncesi semen kriyoprezervasyonu onkoloji pratiğinde ilk planda tercih edilme-

lidir. Tedavi sonrası dönemde, sperme ait kromozomal ve DNA hasarı açısından laboratuvar değerlendirme ve genetik bilgilendirme çok önemlidir. Çiftler bu değerlendirme sonrası çocuk planlaması yapmalıdır. Kemoterapi sonrası kullanılan ajanların semende saptanabildiği görüşü ile vajinal mukazadan emilimini azaltmak için kondom kullanımı

önerilmelidir (25).

Sonuç olarak testis tümürlü olgularda fertilitenin korunması ve sağlanması mümkün olabilmektedir ancak mutlaka multi-disipliner yaklaşım ile hastaların ele alınması, tedavi süreci boyunca hasta ile iletişimin iyi kurulması ve tedavi seçeneğinin doğru seçilmesi gerekmektedir.

## Kaynaklar

1. Brydøy M, Fosså SD, Klepp O, Bremnes RM, Wist EA, Wentzel-Larsen T, Dahl O. Paternity following treatment for testicular cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Nov 2;97(21):1580-8.
2. Thorup J, Cortes D, Petersen BL. The incidence of bilateral cryptorchidism is increased and the fertility potential is reduced in sons born to mothers who have smoked during pregnancy. *J Urol.* 2006 Aug;176(2):734-7.
3. Ho GT, Gardner H, DeWolf WC, Loughlin KR, Morgentaler A. Influence of testicular carcinoma on ipsilateral spermatogenesis. *J Urol.* 1992 Sep;148(3):821-5.
4. Hobarth K, Klingler HC, Maier U, et al. Incidence of antisperm antibodies in patients with carcinoma of the testis and in subfertile men with normogonadotropic oligoasthenozoospermia. *Urol Int* 1994; 52(3): 162-165
5. Petersen PM, Skakkebaek NE, Rørth M, et al. Semen quality and reproductive hormones before and after orchiectomy in men with testicular cancer. *J Urol.* 1999 Mar;161(3):822-6.
6. *J Urol.* 1999 Mar;161(3):822-6. Semen quality and reproductive hormones before and after orchiectomy in men with testicular cancer. Petersen PM1, Skakkebaek NE, Rørth M, Giwercman A.
7. *Hum Reprod.* 2006 Nov;21(11):2882-9. Epub 2006 Sep 22. Effect of chemo- or radiotherapy on sperm parameters of testicular cancer patients. Gandini L, Sgrò P, Lombardo F, Paoli D, Culasso F, Toselli L, Tsamatropoulos P, Lenzi A.
8. *Hum Reprod.* 2014 Sep;29(9):1866-74. doi: 10.1093/humrep/deu179. Epub 2014 Jul 21. Sperm concentration, hyaluronic acid-binding capacity, aneuploidy and persistent histones in testicular cancer. Molnar Z, Mokanszki A, Kassai Bazsane Z, Bhattoa HP, Benyo M, Olah E, Jakab A.
9. *Onkologie.* 2001 Aug;24(4):326-30. Impact of chemotherapy on male fertility. Schrader M, Heicappell R, Müller M, Straub B, Miller K.
10. Boekelheide K. Mechanisms of toxic damage to spermatogenesis. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2005;(34):6-8.
11. Carmignani L, Gadda F, Gazzano G, Nerva F, Mancini M, Ferruti M, Bulfamante G, Bosari S, Coggi G, Rocco F, Colpi GM. High incidence of benign testicular neoplasms diagnosed by ultrasound. *J Urol.* 2003 Nov;170(5):1783-6.
12. Meistrich ML, Shetty G. Hormonal suppression for fertility preservation in males and females. *Reproduction.* 2008 Dec;136(6):691-701. doi: 10.1530/REP-08-0096. Epub 2008 May 30.
13. Bujan L, Walschaerts M, Moinard N, Hennebicq S, Saias J, Brugnol F, Auger J, Berthaut I, Szerman E, Daudin M, Rives N. Impact of chemotherapy and radiotherapy for testicular germ cell tumors on spermatogenesis and sperm DNA: a multicenter prospective study from the CECOS network. *Fertil Steril.* 2013 Sep;100(3):673-80. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.05.018. Epub 2013 Jun 10.
14. Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertil Steril.* 2013 Nov;100(5):1180-6. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.08.010. Epub 2013 Sep 4.
15. Isaksson S, Eberhard J, Ståhl O, Cavallin-Ståhl E, Cohn-Cedermark G, Arver S, Lundberg Giwercman Y, Giwercman A. Inhibin B concentration is predictive for long-term azoospermia in men treated for testicular cancer. *Andrology.* 2014 Mar;2(2):252-8. doi: 10.1111/j.2047-2927.2014.00182.x. Epub 2014 Feb 12.
16. Holloch P, Wald M. Current options for preservation of fertility in the male. *Fertil Steril.* 2011 Aug;96(2):286-90. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.06.028. Epub 2011 Jun 25.
17. Wyns C, Curaba M, Vanabelle B, Van Langendonck A, Donnez J. Options for fertility preservation in prepubertal boys. *Hum Reprod Update.* 2010 May-Jun;16(3):312-28.
18. Jahnukainen K, Ehmcke J, Nurmio M, Schlatt S. Cancer Res. Autologous ectopic grafting of cryopreserved testicular tissue preserves the fertility of prepubescent monkeys that receive sterilizing cytotoxic therapy. 2012 Oct 15;72(20):5174-8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1317. Epub 2012 Aug 17.
19. Schrader M, Müller M, Sofikitis N, Straub B, Krause H, Miller K. "Onco-tese": testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients before chemotherapy-new guidelines? *Urology.* 2003 Feb;61(2):421-5.
20. Schrader M, Müller M, Sofikitis N, Straub B, Miller K. Testicular sperm extraction in azoospermic cancer patients prior to treatment--a new guideline? *Hum Reprod.* 2002 Apr;17(4):1127-8.
21. Roque M, Sampaio M, de Oliveira Salles PG, Geber S. Onco-testicular sperm extraction: birth of a healthy baby after fertility preservation in synchronous bilateral testicular cancer and azoospermia. *Andrologia.* 2014 May 20. doi: 10.1111/and.12292.
22. Hsiao W, Stahl PJ, Osterberg EC, Nejat E, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Successful treatment of postchemotherapy azoospermia with microsurgical testicular sperm extraction: the Weill Cornell experience. *J Clin Oncol.* 2011 Apr 20;29(12):1607-11. doi: 10.1200/JCO.2010.33.7808. Epub 2011 Mar 14.
23. Choy JT, Wiser HJ, Bell SW, Cashy J, Brannigan RE, Köhler TS. Predictors of spermatogenesis in orchiectomy specimens. *Urology.* 2013 Feb;81(2):288-92. doi: 10.1016/j.urology.2012.10.038.
24. Hallak J, Cocuzza M, Sarkis AS, Athayde KS, Cerri GG, Srougi M. Organ-sparing microsurgical resection of incidental testicular tumors plus microdissection for sperm extraction and cryopreservation in azoospermic patients: surgical aspects and technical refinements. *Urology.* 2009 Apr;73(4):887-91; discussion 891-2. doi: 10.1016/j.urology.2008.08.510. Epub 2009 Feb 8.
25. Choy JT, Brannigan RE. The determination of reproductive safety in men during and after cancer treatment. *Fertil Steril.* 2013 Nov;100(5):1187-91. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.1974. Epub 2013 Aug 28.