



Sperm Değerlendirmesi Sperm Analysis

Deniz Aka Satar¹, Servet Gençdal²

¹ Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Androloji Laboratuvarı, Adana, Turkey

² Kozan Devlet Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisi, Adana, Turkey

ABSTRACT

Infertility may be defined as failure to meet the reproductive function. Statistically infertility affects 15% of married couples at reproductive age. In 30-40% of cases males and 40-50% of cases females are responsible for infertility. The first step in diagnosis of male infertility is semen analysis. Semen analysis is the most important examination in the evaluation of male fertility. This review includes up to date information about the semen analysis in which the World Health Organization is trying to provide international standardization work.

Key words: Infertility, semen, spermatogenesis, sperm analysis.

ÖZET

İnfertilite, üreme fonksiyonunun yerine getirilememesi olarak tanımlanabilir. İstatistiksel olarak üreme çağındaki evli çiftlerin %15'ini etkileyen bir sorundur. Çiftlerin %30-40'ında erkek, %40-50'sinde ise kadın infertiliteden sorumludur. Erkek infertilitesinde tanıda ilk basamak spermiyogram tetkikidir. Semen analizi erkeğin fertilitate değerlendirmesinde en önemli tetkiktir. Bu yazıda Dünya Sağlık Örgütü'nün uluslararası standardizasyonu sağlamaya çalıştığı semen analizi konusunda güncel bilgiler gözden geçirilmiştir

Anahtar sözcükler: İnfertilite, semen, spermatogenez, spermiyogram.



Giriş

İnfertilite, üreme fonksiyonunun yerine getirilememesi olarak tanımlanabilir. Bir yıl boyunca düzenli ilişkiye rağmen (haftada iki gün) gebelik elde edemeyen çiftler infertil olarak değerlendirilir. İnfertilite üreme çağındaki çiftlerin %15'sini etkileyen bir sorundur ve erkek

faktörü tek başına bu sorunun yaklaşık %50'sini oluşturur¹⁻³. İnfertilitede eğer erkeğe ait bir problem söz konusu ise, bu sıklıkla sperm parametrelerinde bir bozulma ile ortaya çıkar.

Birçok çevresel faktör spermatozoanın kapasitasyonunu ve neticede oosit ile etkileşimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ilk basamaklardan biri spermiyogram ile sperm kalitesini ortaya çıkarmaktır. Bu yazıda güncel bilgiler ışığında sperm gelişimini, spermiyogram tetkikini, kullanılan teknikleri ve uygulamaları gözden geçirilmiştir.

Spermatogenez

Sperm üretimi oldukça uzun ve karmaşık bir süreçtir⁴. Olgun sperm oluşumu 72 günlük sikluslar halinde pubertede başlar, yaşam boyunca sürer. Germ hücrelerinin çeşitli aşamalardan geçtikten sonra sperm hücresi haline gelmesi "spermatogenez" olarak adlandırılır⁵. Bu süreç içinde germ hücreleri mayoz bölünme sonrası 46 kromozomlu diploid halden 23 kromozomlu haploid hale gelirler ve yine 23 kromozom içeren haploid yumurta hücresi ile birleşerek yine 46 kromozomlu yeni bir bireyin oluşmasına olanak sağlarlar. Spermatogenez proliferasyon fazı, redüksiyon-bölünme fazı ve farklılaşma fazı olmak üzere üç aşamada incelenir⁴⁻⁶.

Her aşamada hücreler spermatogonia, spermatosit, spermatid gibi farklı isimler alırlar. Testis dokusu, içinde kan damarları, sinir lifleri ve kas hücreleri içeren bir kapsül tarafından çevrelenmiş (skrotum) bir yapının içindedir. Spermatogenez, testiste seminifer tübüllerin içinde gerçekleşir. Her bir testis içinde yaklaşık 500 seminifer tübül bulunur ve tek bir tübülün uzunluğu 30-70 santimetredir. Seminifer tübüller testis hacminin yaklaşık %80-90'ını oluştururlar. Bu nedenle testis hacmi kabaca sperm üretim potansiyeli hakkında fikir verir⁴⁻⁶. Seminiferöz epitelde iki farklı tip hücre bulunur. Bunlar besleyici ve aynı zamanda destek hücreleri olan Sertoli hücreleri ve sperm yapımından sorumlu olan germ ya da spermatogonik hücrelerdir. Testislerde bulunan bir diğer hücre türü de erkek seks hormonu olan testosteron yapımını sağlayan Leydig hücreleridir. Seminifer tübül içinde spermatogenezin tüm

aşamalarındaki sperm öncü hücreler bulunur. Farklılaşma fazını tamamlayan hücreler seminifer tübül içine salınırlar. Bu nedenle testisin farklı kesimlerindeki alanlarda gelişimin değişik evrelerindeki sperm üretimi devam eder⁷⁻¹⁰.

Proliferasyon Fazı

Germinal epitel içinde olgunlaşma evresinin ilk basamağındaki hücreler spermatogonyumlardır. Mitoz bölünme ile oluşan bu hücrelerin bir bölümü spermatogenez sürecine girerken bir kısmı dejenere olur⁴⁻⁶.

Redüksiyon-Bölünme Fazı

İnsanda, tip A koyu spermatogonyumlar, tip A açık spermatogonyumlar, ve tip B spermatogonyumlar olmak üzere üç grup spermatogonyum ayırt edilmiştir. Tip A koyu spermatogonyumlar, rezerv (stem) hücreler olarak görev yaparlar ve bölünerek tip A açık spermatogonyumları oluştururlar. Tip A açık spermatogonyumlar da mitotik bölünmelerle tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar ise farklılaşma sürecine girerek primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitor) hücrelerdir^{4,5}.

Primer spermatositler ise birinci mayoz bölünme ile sekonder spermatositleri oluşturur. Hemen arkasından ikinci mayoz bölünmeyi geçirerek haploid sayıda kromozom içeren spermatidler meydana getirir. Spermatogenetik hücrelerin sertoli hücreleri arasındaki bölümde bulunması ile puberteden önce seminifer tübül lümenine geçişleri engellenir. Spermatosit adını alan hücreler DNA içeriklerini yani genetik materyallerini iki katına çıkardıktan sonra 4 ayrı hücreye bölünürler. Bu 4 hücreden her biri artık 23 kromozom içermektedir^{6,7}.

Farklılaşma Fazı

Bölünerek genetik materyallerini yarıya indiren bu yeni hücreler metamorfoza uğrayarak spermatozoanlara farklılaşırlar. Buna spermiyogenez adı verilir. Spermiyogenez akrozom oluşumunu, nükleus uzaması ve yoğunlaşmasını, flagellum gelişmesini ve sitoplazmanın kaybolmasını içeren karmaşık bir süreçtir^{7,8}. Differansiasyonun tamamlanmasından sonra spermatozoonlar Sertoli hücrelerinden ayrılırlar ve seminiferöz tübül lümenine geçer (Spermiasyon). Bu evrede hücreler morfolojik olarak olgundur fakat fonksiyonel olgunluğa erişememiştir. Hareket kabileyetine henüz sahip olmayan bu hücrelerin ovumu fertilize

edebilmesi de bu safhada sınırlı olup, olgunlaşmanın son basamağı olarak bilinen kapasitasyon dişilere ejakülasyondan sonra görülür^{7,8}.

Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi

Dünya çapında yapılan ve 32 kliniği içeren çok merkezli bir çalışmada, infertil çiftlerinin % 30-40'ında sadece erkek faktörü infertilite nedeni olarak karşımıza çıkmaktadır¹¹. İnfertil olarak tanımlanan erkeklerin %12'si 4 yıl içinde gebelik oluşturabilmektedir. Erkek infertilitesinde, ilk ve temel tetkik spermiyogramdır¹²⁻¹⁴. Klinik araştırma sırasında erkek sistematik bir şekilde incelenmelidir. Değerlendirme; anamnez, fizik muayene ve ejakülatın laboratuvarında incelenmesini kapsar. Hastanın öyküsü ayrıntılı olarak alınmalıdır. İnfertilite öyküsü, cinsel yaşam öyküsü, çocukluk çağı hastalıkları ve gelişim öyküsü, enfeksiyonlar, geçirilmiş operasyonlar, gonadal toksinlere maruziyet, sistemik hastalıklar, kullanılan ilaçlar ve aile öyküsü alınmalıdır. Erkek infertilitesi değerlendirilirken tıbbi ve üreme öyküsü, bir ürolog ya da bu konuda uzman kişi tarafından yapılmış fizik muayene ve en azından iki semen analizi gereklidir. Sonuca göre infertilitenin etiyojisine göre ek testler istenebilir. Bu testleri; ek semen analizi, endokrin değerlendirme, postejakulatuar idrar analizi, ultrasonografi, semen ve spermle ilgili özel testler ve genetik tarama olarak sayabiliriz^{8,9,13,14}.

Semen parametrelerinin değerlendirilmesinde normal değerler konusunda bir karışıklık bulunmaktadır. Normal fertil erkeklerde bile semen değerleri zaman içerisinde büyük değişiklikler gösterebilir ve normal değerlerin altına düşebilir¹⁵. Bu değişiklikler semen analizinde normal değerlerin tanımlanmasında güçlükler yaratmaktadır. Normal semen, spermatozoonlar (olgun germ hücresi) ile testis ve epididimisin salgısının ve ejakülasyon sırasında prostat, seminal veziküller ve bulboüretal bezlerinin salgılarının birleşmesiyle oluşur. Sonuçta, viskozitesi yüksek bu sıvıya semen (ejakülat) adı verilir^{16,17}. Semen kalitesi, klasik olarak spermatozoonların semen içerisindeki sayısı, motilitesi ve morfolojisine bakılarak değerlendirilir. Bu parametrelerden spermatozoon morfolojisi, erkeğin çocuk sahibi olabile potansiyelini en iyi biçimde gösteren ölçütlerden biridir. Spermatozoon morfolojisi ile fertilizasyon potansiyeli arasındaki bağlantı birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur¹⁸.

Klasik Semen Analizi

Erkek fertilizasyon potansiyelinin araştırılmasındaki ilk adım en az 4 hafta ara ile uygun yapılmış 2 semen analizi olmalıdır¹³. Klasik semen analizi için incelenecek ejakülat en az 48

saatlik cinsel perhiz sonrasında masturbasyon ile steril bir kaba alınmalı ve cinsel perhiz 7 günü geçmemelidir. Örnek en geç 30 dakika içerisinde tetkik yapılacak laboratuvara getirilmiş olmalıdır. Ejakülatın makroskopik bakışında görünümü, miktarı, likefaksiyon zamanı, viskozitesi ve pH'ı değerlendirilir. İlk değerlendirme için iki örnek alınmalıdır. İki örnek arasında geçen zaman 7 günden az, 3 haftadan çok olmamalıdır^{13,16}. Semen analizinin önemli kısmını ise mikroskopik inceleme oluşturmaktadır. Mikroskopik değerlendirme sonucunda spermiyogram WHO parametrelerine göre yorumlanır (Tablo.1). Laboratuvarda rutin olarak kullanılmakta olan hemositometrilerin sperm sayım sonuçlarındaki doğruluğu bu aletlerdeki spermin konulduğu bölümün derinliğinin çok fazla olması nedeniyle tartışmalıdır.

Tablo.1. Normal Spermiyogram Parametreleri

Değişken	Normal Parametre
Semen volümü (ml)	1.5
Total sperm sayısı	39 (milyon)
Sperm konsantrasyonu	15 (milyon/mL)
Total motilite	40 (%)
Progressive motilite	32 (%)
Vitalite	58 (canlı sperm, %)
Sperm morfolojisi	4 (normal formlar, %)
pH	>7.2
Peroksidaz-pozitif lökosit	<1.0 (milyon / ml)
MAR testi	<50 (%)
Immunobead testi	<50 (%)
Seminal çinko	>2.4 (µmol/ejakülat)
Seminal fruktoz	>13 (µmol/ejakülat)
Seminal nötral glukozidaz	>20 (mU/ejakülat)

Bunu önlemek amacıyla 1978 yılında Makler tarafından sperm sayımı için özel tasarlanmış Makler sperm sayım aletleri kullanılmaktadır. Semen örneğinin incelendiği gözeneğin 10 mm derinliğinde olması spermatozoanın tek bir düzlemde serbest hareketine olanak sağlamakta, ayrıca sayım daha kolay yapılabilmektedir. Bu alet ile hareketlilik yüzdeleri de daha kesin olarak saptanabilmektedir¹³.

Mikroskopik incelemede sperm sayısı, hareketliliği, yuvarlak hücre sayısı, aglütinasyonun varsa derecelendirilmesi, morfoloji ve yuvarlak hücrelerin sınıflandırılması incelenir. Spermin

sayısı, hemositometre kullanılıyorsa seyreltilerek, Makler sayım kamarası kullanılıyorsa seyreltilmeden değerlendirilir. Güvenilir bir değerlendirme için ideal olan 100 karedeki spermli sayıdır. Kullanılan alete bağımlı olarak, tek karedeki ortalama sperm sayısı temel alınarak sayım milyon/ml olarak ifade edilir. Sperm konsantrasyonu, total ejakülattaki 1 ml deki sperm sayısı olarak tanımlanır. En popüler sperm sayım kamaraları; hemositometre, standart sayım, makler kamarası, cellview'dir. Makler kamarasında güvenilir bir sonuç için ideal olanı 100 karedeki spermli sayıdır. Normal sperm konsantrasyon değeri 20 milyon/ml olarak kabul edilmektedir. Bu değer MacLead ve Gold tarafından yapılan çalışmada fertil erkeklerin sadece %5'inde sperm konsantrasyonunun 20 milyon/ ml'nin altında bulunması sonucunda belirlenmiştir¹⁹.(Tablo 2).

Tablo.2. Sperm Konsantrasyonuna Göre Sınıflama

Tanım	Sperm sayısı (milyon/ml)
Azospermi	0
Şiddetli oligospermi	<1
Orta oligospermi	1-5
Hafif oligospermi	5-20
Normospermi	>20

Sperm Analizinde Terminoloji

Bazı semen değişkenleri için terminoloji Tablo.3'de gösterilmiştir.

Tablo.3. Semen Değişkenlerinin Terminolojisi

Terim	Anlamı
Normozoospermi:	Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülata,
Oligozoospermi:	Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu,
Asthenozoospermi:	Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer,
Teratozoospermi:	Morfoloji için referans değerden daha düşük değer
Oligoasthenoteratozoospermia:	Her üç değişkenin de bozukluğuna işaret eder
Azoospermi:	Ejakülatta hiç spermatozoa bulunmaması,
Aspermia:	Hiç ejakülata elde edilememesi

Sperm Hareketliliği ve Motilitenin Değerlendirilmesi

Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen ve hareketliliği 4 derecede değerlendiren sistem uygulamasının kolay olması ve karmaşık cihazlara ihtiyaç göstermeden gerekli kalitatif bilgiyi

sağlaması nedeniyle rutin semen analizinde tercih edilmektedir: a. Hızlı doğrusal progresif hareket, b. Yavaş doğrusal ya da doğrusal olmayan hareket, c. Progresif olmayan hareketlilik, d. Hareketsiz.

Sperm motilitesi, ejakülattaki progresif hareketli sperm yüzdesi olarak ileri doğru hareketli sperm veya % 25 hızlı ileri doğru hareketli sperm yüzdesi olarak kabul edilmektedir. Sperm hareketliliği Dünya Sağlık Örgütü (WHO);0 (hiç hareket yok) ile 4 (iyi ileri hareketli) arasında dört sınıfta değerlendirmektedir: + 4 Hızlı ileri progresif hareket, + 3 Yavaş doğrusal olmayan hareket, + 2 Yerde Hareketli, + 1 Hareketsiz anormal.

Sperm motilitesi iki şekilde ölçülebilir: El ile veya bilgisayar destekli olarak (CASA: Computer aided sperm analysis). Sperm konsantrasyonunda olduğu gibi motilite değerlendirmesinde de aynı semen örneğinde dahi elde edilen sonuçlar arasında büyük farklılıklar olması kişisel laboratuvarların tecrübesinden kaynaklanmaktadır¹³.

Bundan dolayıdır ki, hekim laboratuvarın daha çok hangi sayım kamarasını tercih ettiğine, laboratuvarın fertil popülasyon için hangi referans değerlerini kabul ettiğine dikkat etmelidir. Spermin motilite bozukluğunun çeşitli sebepleri olsa da (örneğin; immotil silia sendromu gibi) astenozoospermik pek çok erkekte sebep saptanamamaktadır.

Sperm Morfolojisi

Rutin semen analizinde morfoloji, spermin fiziksel özelliklerinin gross olarak görsel değerlendirilmesidir. Normal bir sperm baş ve kuyruk olmak üzere iki parçadan oluşur. Baş kısmında akrozom, post akrozomal parça ve çekirdek (nükleus) bulunur. Kuyruk ise boyun, orta parça, ana parça ve son parçadan meydana gelmiştir. Orta parçada spermin hareketi için enerji üreten mitokondriler yer alır. Spermin kuyruk kısmında oluşan anomaliler spermin motilitesi üzerine olumsuz etki oluşturur¹³⁻¹⁶.

Normal spermin morfolojik özellikleri Kruger strict kriterleri ve WHO kriterleri ile belirlenmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre spermlerin en az %30 'unun morfolojisinin normal olması gereklidir. Kruger strict kriterlerine göre ise spermlerin tüm morfolojik özelliklerinin normal olması gereklidir, en ufak bir anomalide o sperm anormal olarak değerlendirilir. İlk kez 1986'da Kruger ve arkadaşlarının tanımladığı bu kesin kriterler 1990 yılında Menkeveld ve arkadaşları tarafından modifiye edilmiştir²⁰.

Spermin Kruger strict kriterlerine göre değerlendirilmesinin en önemli avantajı morfolojik olarak normal değerlendirilen sperm oranı ile IVF başarısı arasında korelasyon bulunmasıdır. Kruger'e göre normal morfolojinin %4 'ten az olduğu durumlarda oosit başına fertilizasyon oranı %7,6 iken %4'ün üzerinde normal morfolojisi olan örneklerde fertilizasyon oranı %63,9 'a ulaşmaktadır¹⁵⁻¹⁸. Morfolojik değerlendirme için en az 100, tercihen 200 sperm hücresi incelenmesi gereklidir. İmmersiyon merceği kullanılmalıdır, anormal sperm formalrı baş, ana parça ve kuyruk anormalliklerini içerir.

Post-Ejakulatuar İdrar Analizi

Ejakulat volümü, 1 ml'nin altında veya hiç ejakulat yok ise retrograd ejakulasyon, ejakulatuar kanal obstrüksiyonu, hipogonadizm veya bilateral konjenital vas deferens agenezisi ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Hipogonadizm ve bilateral konjenital vas deferens agenezisi tanısı ekarte ediliyorsa retrograd ejakulasyon tanısını koymak için postejakulatuar idrar analizi yapılmalıdır. Ancak ejakulatin uygun şekilde ve uygun sürede alınmış olmasından emin olunmalıdır¹⁷.

Post-ejakulatuar idrar, minimum 10 dakika 300 devirde santrifüje edildikten sonra alınan pellet 400x büyütmede mikroskopik olarak incelenmelidir. Post ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmesi aspermili veya azospermili bir hastada retrograd ejakulasyon tanısını koydurur. Ancak henüz idrarda en az kaç sperm görülmesi gerektiği konusunda tam bir fikir birliği yoktur. Genel kabul her sahada 5-10 sperm görülmesi yeterlidir¹⁸.

Özel Semen ve Sperm Testleri

Bu testler, infertil erkeğin rutin değerlendirilmesi esnasında kullanılmazlar. Ancak küçük bir hasta grubunda açıklanamayan infertiliteyi katkıda bulunan erkek faktörünün araştırılmasında ve yardımcıyla üreme tekniği (ART) teknolojisi gibi bir tedavi yönteminin seçilmesinde yardımcı yöntemlerdir. Semende lökosit miktarı Semende lökosit artışı sperm fonksiyonları ve motilitesinde bozucu etkiye sahiptir. Direkt mikroskopide hem lökositler hem de immatür germ hücreleri yuvarlak hücre olarak görülürler. Bazı laboratuarlarda tüm yuvarlak hücreler yanlış olarak lökosit olarak adlandırılırlar^{14,18}.

Hekim bu iki hücre tipinin iyi ayrılmış olmasından emin olmalıdır. Ayırım için sitolojik boyamalar ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılır. Gerçek piyospermili (1

milyon/ml'den fazla lökosit varlığı) hastalar genital enfeksiyon veya enflamasyon açısından değerlendirilmelidirler.

Anti-sperm antikor (ASA) testleri normalde testis ile kan arasında bir bariyer vardır ve bu bariyer spermlerin immün sisteme maruz kalmasını önler. Sperm üretimi puberte sonrası başladığı için daha önce oluşmuş olan immün sistem spermleri tanımaz ve yabancı olarak değerlendirir. ASA oluşumu için risk faktörleri; duktal obstrüksiyon, önceki genital enfeksiyonlar, testiküler travma, önceden yapılmış vazo-vazostomi veya vazoepididimostomidir. ASA testleri; sperm sayısı normal, sperm aglütinasyonu veya bozuk post-koital testi olan izole astenospermili kişilerde yapılmalıdır^{21,22}

Direk testler ile sperm yüzeyinde bulunan ASA indirek testler ile serum ve seminal plazmada bulunan ASA'dan daha fazla anlamlıdır. Eğer kişiye ICSI planlanıyorsa ASA ölçümü gerekli değildir¹⁴.

Sonuç

Sperm analizi erkek infertilitesinde ilk ve temel test olarak kullanılmaktadır. Kişinin fertilitesi hakkında fikir verebilmesi için sperm analizinin toplanması ve analizi standart bir uygulama ile yapılmalıdır. Yapılacak olan uygun ve güncel testler erkek infertilitesinin sonlandırılması konusunda yüz güldürücü sonuçlar verecektir.

Kaynaklar

1. Kışınç HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T et al. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara, Güneş Kitabevi, 1996.
2. Kayıkçı MA, Çam HK, Akman Y, Erol A. Erkek infertilitesini değerlendirmede semen analizinin özellikleri ve rolü. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi. 2002; 4:35-8.
3. Moshcr WD, Pratt WF. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. Fertil Steril. 1991; 56:192-3.
4. Sigman M, Howards SS. Male infertility. In Campbell's Urology, 7th edition (Eds PC Walsh, AB Retik, ED Vaughan):1287-9. Philadelphia, W.B. Saunders, 1998.
5. Mazumdar S, Levine AS. Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. Fertil Steril. 1998; 70:799-810.
6. Turek PJ. Male infertility. In: Smith's General Urology, 15th edition (Eds EA Tanagho, JW McAninch):773-4. New York, McGraw-Hill, 2000.

7. Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö. Özel Histoloji Ders Notları. Adana, Çukurova Üniversitesi Kitapevi, 2000.
8. Önder Ç. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar. İstanbul, Nobel Kitabevi, 2011.
9. Gartner LP, Hiatt JL, Color Textbook Histology, 2nd edition. New York, W.B. Saunders, 2001.
10. Casey PJ, Hilman RB, Robertson KR, Yudin AI, Liu IKM, Drobnis EZ. Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. *J Androl* 1993; 14:289-97.
11. Comhaire FH, de Kretser DM, Farley TM, Rowe PJ. Toward more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl*. 1987; 7(Suppl):1-53.
12. Burrows PJ, Schepterman CG, Lipshultz LI. Comprehensive office evaluation in the new millennium. *Urol Clin North Am* 2002; 29:873-94.
13. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edition. Geneva, World Health Organization, 2010.
14. Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z. Textbook of Assisted Reproductive Techniques, Laboratory and Clinical Perspectives, 2nd Edition. New York, Taylor & Francis, 2004.
15. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Veeck LL et al. New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human in vitro fertilization. *Urology*. 1987; 30:248-51.
16. Işık AZ, Vicdan K. İn Vitro Fertilizasyon ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuvar. Ankara, Çağdaş Medikal, 1999.
17. Delilbaşı L. İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. Güneş Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008.
18. Hassa H. İnfertil Olgularda Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları. Eskişehir, Osmangazi Üniversitesi Yayınları, 2003.
19. MacLead J, Gold RZ. The male factor infertility and infertility. VI: semen quality and certain other factors in relation to ease of contraception. *Fertil Steril*. 1953; 4:10-33.
20. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, Van Zyl JA et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1986; 46:1118-23.
21. Marsburn PB, Kuttch WH. The role of antisperm antibodies in infertility. *Fertil Steril*. 1994; 61:799-811.
22. Helmerhorst FM, Finken MJ, Erwich JJ. Antisperm antibodies: detection assays for antisperm antibodies: what do they test? *Hum Reprod*. 1999; 14:1669-71.

Correspondence Address / Yazışma adresi:

Deniz Aka Satar
Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Androloji Laboratuvarı
Adana, Turkey.
e-mail: denizakasatar@yahoo.com