

MORPHOLOGICAL OVERVIEW OF INFERTILITY: SPERM HEAD DEFECTS AND FERTILIZATION

İNFERTİLİTEYE MORFOLOJİK BAKIŞ: SPERM BAŞ DEFEKTLERİ VE FERTİLİZASYON

Oğuzhan Bulduk, Nureddin Cengiz

Sakarya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı,
Sakarya

Abstract

Infertility is the status of the couples who cannot achieve the pregnancy that can be due to the insufficiency of the reproductive functions, urogenital diseases as well as unexplained reasons. The increment occurred in the infertility rate has led to the questioning of infertility with also the emergence of treatment options. Sperm analysis is the most important technique that is used for the diagnosis related to the man and it shows clearly the motility, amount and the morphology of the sperm that is important in fertilization. WHO (World Health Organization) and Kruger criteria are the most common ones in order to evaluate the morphology of the sperm. There can be the head, neck, middle piece, tail defects that can occur with respect to the sperm morphology. The abnormalities related to the head of the sperm can lead to the infertility due to the inadequacies and imperfections of its motility, acrosome reaction and fertilization ability. Normal sperm morphology is a perfect indicator of the fertilization rate. It has been thought that the pregnancies that are created by using techniques such as ICSI can lead to the abortion and birth of an abnormal infant due to the chromosomal abnormalities of sperms with head defects. Therefore, morphological defects of the sperm cells should be well determined, and they should not be used in IVF applications.

Key Words: Head defects, fertilization, sperm

Özet

Çiftlerin gebelik elde edememeleri olarak karşımıza çıkan infertilite; üreme fonksiyonlarının yetersizliği, ürogenital hastalıklar ve açıklanamayan sebeplerden kaynaklanabilmektedir. İnfertilite oranlarında meydana gelen artış tedavi seçeneklerinin ortaya çıkmasıyla birlikte infertilite nedenlerinin de sorgulanmasına yol açmıştır. Erkek faktörüyle ilgili tanıda kullanılan en önemli yöntem olan sperm analizi, fertilizasyonda etkili olan spermin motilite, sayı ve morfolojisini bizlere net bir şekilde göstermektedir. Spermin morfoloji değerlendirmesi için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ile Kruger kriterleri en yaygın kullanılanlardır. Spermin morfolojisinde baş, boyun, orta parça, kuyruk defektleri meydana gelebilmektedir. Sperm başına ait morfolojik anomaliler motilite, akrozom reaksiyonu ve fertilizasyon kabiliyetlerinde yetersizlikler ve kusurlara neden olarak infertiliteye sebebiyet vermektedir. Fertilizasyon oranı için normal sperm morfolojisi mükemmel bir belirleyicidir. Baş defektlerine sahip spermilerin sahip olabileceği kromozal anomaliler nedeniyle ICSI gibi yöntemlerle elde edilebilecek gebeliklerde abortus ve anomalili çocuk doğumların gerçekleşebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle sperm hücrelerindeki morfolojik defektlerin dikkatli bir şekilde iyi tayin edilmesi, IVF uygulamalarında tercih edilmemeleri gerekmektedir.

Anahtar Sözcükler: Baş defektleri, fertilizasyon, sperm

Giriş

İnfertilite, çiftlerin cinsel yönden aktif olmalarına ve doğum kontrol yöntemi uygulamamalarına karşın bir yıl içerisinde gebelik elde edememeleri olarak tanımlanmaktadır (1). Günümüz evli çiftlerinde anne, baba veya her ikisine bağlı olarak ortaya çıkabilen, çiftlerin %15 kadarını etkileyen ve gittikçe artan bir sağlık sorunudur (2). İnfertilite çiftlerde %30 erkeğe, %40 kadına, %20 erkek ve kadının her ikisine bağlı olarak, %10 ise açıklanamayan (idiyopatik) sebeplerden ortaya çıkmaktadır (3). İnfertilitede erkek faktörleri ürogenital sistem organlarından kaynaklı olabilmektedir. Sperm üretim bozuklukları, sperm yapısal ve sayısal bozuklukları, sperm kanallarındaki tıkanıklıklar, sperme karşı antikor varlığı, genetik mutasyonlar, testis travması, hormonal ve kromozomal bozukluklar, anatomik problemler, varikosel, geçirilmiş hastalıklar, ürogenital enfeksiyonlar, çevresel faktörler, açıklanamayan nedenler ve bazı ilaçlar erkeğe bağlı infertilite sebepleri olarak gösterilebilir (1,4).

Bu sebeplerin yanı sıra semen parametreleri de erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Semen parametreleri incelemelerinde sperm sayı ve hareketinin yanı sıra morfolojisi de incelenmesi gereken kriterlerin başında gelmektedir (5).

Sperm morfolojisi bozuklukları ile sperm motilitesi arasında anlamlı ve yakın ilişki olduğunu vurgulayan bir çalışmada morfolojik bozukluğun lokalizasyonunun motiliteyi etkileyebileceği gösterilmiştir (6). Morfolojik değerlendirmenin başlıca amacı normal ve anormal spermatozoanın ayırt edilmesini sağlayarak spermatozoa kalitesini ortaya koymaktır. Sperm morfolojik olarak anormal görünümde olması fertilizasyonu etkileyen unsurların başında gelmektedir (7,8). Spermatozoanın morfoloji değerlendirmesi için Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterleri ile Kruger kriterleri en yaygın kullanılanlardır. Baş, boyun, orta parça ve kuyruk olmak üzere 4 kısımdan meydana gelen sperm ortalama 60-65 µm uzunluğundadır. Normal bir sperm morfolojisinde baş oval yapıda, uzunluğu 5-6 µm, genişliği ise 2.5-3.5 µm olmalı, fertilizasyonda önemli bir yer tutan akrozom başın ön kısmının %40-70'ini oluşturmalıdır. Baş bölgesinde vakuol sayısı %2'den küçük olmalı ve vakuol, başın kapladığı alanın %20'sini geçmemelidir. Postakrozomal bölgede vakuol bulunmamalıdır. Kuyruk ise kırık veya kıvrık olmamalıdır (1,8). Sperm morfolojisinde baş, boyun ve orta parça, kuyruk defektleri meydana gelebilmektedir. Baş defektlerinde; sperm baş kısmı normal boyutlarına göre büyük (megalo head) ya da küçük (micro head), normal şekline göre konik, piriform,

yuvarlak, amorf, vakuollü, çift başlı veya bunların bir kaçını içerebilir halde olabilir. Başın asimetrik olarak orta parçaya girmesi, orta parçanın kalın, ince ya da düzensiz olması, bunların biri veya bir kaçının bir arada izlenmesi durumunda baş ve orta parça defektleri söz konusudur (1,9).

Spermin Fertilizasyondaki Rolü

Fertilizasyon olayının temelini oosit-spermatozoon füzyonu oluşturmaktadır. Bu füzyonun gerçekleşebilmesi içinde sperme, oosite, çeşitli uyarıcı faktörlere ve hücre-hücre etkileşimlerine ait birçok unsur rol oynamaktadır (10). Fertilizasyonun sağlıklı bir şekilde gerçekleşebilmesi için spermin normal sperm morfolojisine sahip olması gerekmektedir. Baş, boyun, orta parça ve kuyruk bölümlerinden oluşan normal bir sperm hücresinde plazma zarı baş kısmından kuyruğa kadar spermi çevreler. Baş bölümünün büyük kısmını yoğun ve kompakt yapıda içerisinde paternal DNA bulunan nükleus oluşturur. Plazma zarının yanı sıra nükleusu çevreleyen akrozom yapısı mevcuttur. Baş ve ekvatoryal bölge olmak üzere iki kısma ayrılan akrozom sperm başının %40-70'lik kısmını kaplamaktadır (1,11).

Spermin boyun kısmı nükleusun altında yer alan bağlantı parçası ve 9 adet üçlü mikrotübülden oluşan proksimal

sentrioldür. Bu yapı sperm sentrozomunu oluşturur. Sentriol, fertilizasyonun oolemma içerisindeki kısmında nükleusla birlikte rol alan sperm organelidir (11,12).

Spermin orta parçası, iletici gücü oluşturur ve proksimal sentriolden kuyruğun ucuna 9+2 (ortada yer alan iki adet mikrotübül yapı ve periferde dokuz çift mikrotübül) şeklinde organize mikrotübül yapı içererek devam eden santral aksonemden oluşmaktadır. Bu mikrotübül yapının dışında protein fosforilasyonu aracılığı ile spermin hareketinden sorumlu olan 9 adet kalın fibriler yapı mevcuttur. Bunun etrafında mitokondrialardan meydana gelmiş bir kılıf ile sarılıdır. Mitokondriolar spermin flagellum hareketi için ihtiyacı olan ATP'yi sağlar. Orta parça annulus olarak adlandırılan plazmalemma kalınlaşması ile son bulur (11,13).

Spermin hareketini sağlayan kuyruk kısmı 45 µm uzunluğunda ve 0.4-0.5 µm çapındadır. Bir ana parça ve bir terminal parçadan meydana gelmektedir. Sperm kuyruğunda hareketin oluşumunu sağlayan temel yapı olan aksonem, etrafında yoğun dış fibriler yapı ile sperm kuyruğunun %60'nı meydana getiren ve flagellum hareketinin şeklini etkileyen fibröz kılıf yer almaktadır (11,14).

Akrozomda yer alan hyaluronidaz ve proakrozin gibi hidrolitik enzimler fertilizasyonda önemli bir yere sahiptir. Dişi genital kanalına giren 200-300 milyon sperminden yaklaşık olarak 300-500 tanesi fertilizasyon bölgesine ulaşabilmektedir. Sperm, fertilizasyona giden süreçte kendi motilite kabiliyetini kullanarak dişi genital kanalı içerisinde ilerlerken, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu olmak üzere iki önemli reaksiyonu da geçirmektedir. Bu olaylar spermin oositi fertilize edebilecek yeteneğe sahip olabilmesi için gereklidir (13).

Kapasitasyon, dişi genital kanalı içinde spermin fertilizasyon kabiliyeti kazanabilmek için geçirdiği süreci tanımlamaktadır. Kapasitasyon başlangıcında dekapasitan faktörler sperminden uzaklaştırılır ve sperm membranından kolesterolün bağlanarak dışarı alınması sağlanır. Spermatozoonlarda intrasellüler iyon konsantrasyonu (kalsiyum, potasyum, sodyum) ve proteinlerin fosforilasyonu değişiklikleri gerçekleşir. Kapasite olan spermatozoonlarda motilite düzeyi artar ve hiperaktivasyon kazanırlar. Bu sayede akrozom reaksiyonunun gerçekleşeceği ovuma ilerleyiş kolaylaşır. Bir sperm ancak kapasitasyonunu tamamlarsa oositin korona radyata hücreleri arasından geçerek akrozom reaksiyonunu gerçekleştirebilir (15,16).

Kapasitasyonunu tamamlamış olan spermatozoonlar hücre membranlarında bulunan yüzey reseptörleri vasıtasıyla tuba uterinanın ampuller bölgesinde bulunan sekonder oosite, spesifik glikoproteinler vasıtasıyla bağlanırlar. Spermatozoonların bağlanmasıyla Ca²⁺ iyonlarının spermatozoonlara alınması hızlanır ve böylece akrozom reaksiyonu başlar. Akrozomun dış zarı spermatozoonun hücre zarı ile yer yer kaynaşır. Kısa sürede eriyerek açılan bu bölgelerden akrozom enzimleri (hyaluronidaz, akrozin, proteaz, glukoronidaz, vb) serbestleşirler. Bu bölgelerdeki hücre zarı ve akrozomun dış zarı tamamen erir, geriye sadece iç akrozom zarı kalır. Bu olay akrozom reaksiyonu olarak tanımlanır (10, 11).

Akrozom reaksiyonunun başlamasıyla serbestleştirilen hyaluronidaz enzimi korona radyata hücrelerini birbirine bağlayan hyaluronik asiti hidrolize eder. Korona radyata engelini bu şekilde geçen spermiler zona pellucidayı geçmeye çalışırlar. Akrozom reaksiyonu esnasında salınan enzimler denakrozin, esteraz ve nöraminidazlar litik etkileriyle zona pellusida'da spermin geçeceği bir yol açarlar. Buradan geçen ilk spermatozoon oolemmaya yapışır. Spermin üzerinde bulunan, dimerik glikoprotein olan fertilin oosit plazma membranı üzerindeki bir protein ile bağlanır ve sperm oosit birleşmesini indükler. Bu bölgeden

spermin baş ve kuyruğu ile birlikte sitoplazma kısmı oosit II'ye geçer. Bu olay gerçekleştikten sonra da zona reaksiyonu başlatılarak zona pellusidanın diğer spermilere geçirgenliği kaybolur (10,16-18).

Sperm Baş Defektleri

Sperm morfolojisine ait defektlerspermatogenezis esnasında yapısal bozukluklar sonucu ortaya çıkmakta ve bunlar sperm fonksiyonlarını da olumsuz etkilemektedir. Bu yapısal ve fonksiyonel bozuklukların arkasında çevresel, ürogenital ve genetik faktörler yatmaktadır. İnsan semeninde, spermi oluşturan her bir kısmına ait defektler izlenebilmektedir. Bunlardan en sık karşılaşılanlardan birisi ise baş defektleridir. Spermiyogenez sırasında, post mayotik erkek germ hücreleri geçici manşet oluşumu ile köklü morfolojik değişikliklere uğrar. Bu değişimler sperm başının şekillenmesini organize eden α - ve β -tübülinler tarafından gerçekleştirilmektedir. İlerleyen süreçte manşet uzayarak spermatid çekirdeği yoğunlaşır ve bölünmüş sentrozom-aksonem yapısı büyümeye başlar. Bu olayda birden çok gen rol almaktadır. Yapılan bir çalışmada SEPTIN12 geninin α - ve β -tübülinleri ile etkileşim içerisinde olduğu keşfedilmiştir. SEPTIN12 geninin

ekspresyonunda meydana gelen aksaklıklar α - ve β -tübülinlerinin organizasyonunu etkileyerek sperm başı şekillenmesinde ve akrozomda bozulmalara neden olmaktadır (19,20).

Chen ve ark. Kruger morfoloji kriterlerini baz alarak yaptıkları çalışmada artan baş defektlerinin kuyruk defektlerine göre daha fazla görüldüğünü belirtmiştir (21). Baş defektleri başın şekline, akrozom bölgesine ve nükleusa ait defektler olarak sınıflandırılabilir. İnfertil erkeklerin sperm nükleuslarında yapılan çalışmalarda daha yüksek oranda gevşek paketlenmiş kromatin ve hasarlı DNA izlenmiştir (22). Başın şekline göre defektler;

- Çift başlı (double head): Kuyruk ve orta parça tektir ancak baş çifttir.
- Büyük baş (megalo head): Baş uzunluğu 5-6 mikrondan, genişliği ise 2.5-3.5 mikrondan büyüktür.
- Küçük baş (micro head): Baş uzunluğu 5-6 mikrondan, genişliği ise 2.5-3.5 mikrondan küçüktür.
- Piriform baş: Spermin baş kısmı armut tipindedir.
- Sivri baş: Sperm başı uzun ve sivridir.
- Yarık baş: Birden fazla nükleusa sahip sperm başıdır.

- Amorf (şekilsiz) baş : Baş kısmı oval olmayan spermelerdir.
- Elonge (uzamış) baş: Post-akrozomda incelmeler görülür ve baş 5-6 mikrondan daha uzundur.
- Diadem defekti: Sperm baş kısmında çöküntülerin yer almasına neden olan defektir.
- İğne baş (pin-head): Sperm başı toplu iğne görünümündedir (23,24,25).

Akrozoma ait defektler, sperm gelişimi, farklılaşması sırasında, sperm membranının dış etkenler altında ve yaşlanma sonucu tahrip olmasıyla ortaya çıkabilirler. Olgun sperm akrozomunun yapımı, spermiyogenez sırasında Golgi kompleksi tarafından gerçekleştirilir. Erken spermatid döneminde Golgide yapılan akrozomal vezikül ve granül formları giderek spermatid çekirdeğine yaklaşır ve nükleer membranda meydana gelen değişikliklerle yakın temas eder pozisyonda yerleşir. Bu temas bölgesi spermatid çekirdeğinin anterior veya kranial kutbunun tanımlanmasını da sağlar. Akrozom 0.1 µm kalınlığında düzenli bir yapıya sahiptir ancak ekvatoryal segmentte daha incedir. Ekvatoryal segmentin altında akrozomu kuşatan sperm plazma membranı nükleer

membrana temas ederek post akrozomal yoğun lamina veya post akrozomal kılıfı oluşturur. Erken spermiyogenez esnasında akrozomal veziküllerin nükleer membrana bağlanmasında meydana gelen aksaklıklar düzensiz salgı aktivitesine ve akrozomal granülün hatalı lokalizasyonuna neden olur. Bu durumda akrozom sperm nükleusunun üstünü kaplayamaz ve yanlış yerleşimin bir sonucu olarak sertoli hücreleri tarafından sindirimi gerçekleştirilir Akrozom yetersizliği veya yokluğu şeklinde tanımlanan başlıca iki nedenden dolayı akrozomal anomaliler infertiliteye neden olur. Akrozom yokluğunda (akrozomal agenezi) yuvarlak ve sadece nükleustan ibaret bir baş bölgesine sahip olan spermeler oluşur ki bu durum globozoospermi olarak adlandırılır. Akrozom yetersizliği ise akrozomal hipoplazi şeklinde tanımlanır (20,26,27). Kruger morfolojisine göre % 4'ün altındaki değerler ve amorf spermatozoa baskın olan hastalarda kromatin ve akrozom defektleri yüksek orana sahiptir (28). Bu anomaliler spermatozoanın akrozomal reaksiyonu gerçekleştirmesinde ve zona pellusidaya penetrasyonunda sorunlar yaşamasına neden olmaktadır. ICSI denemelerinde en az başarı sağlanan defektlerden birisidir (29,30).

Yapılan çalışmalarda sperm morfolojisi ve sperm kromozom içeriği arasında bir ilişki olduğu gözlenmiştir.

Büyük baş sperm defekti görülen erkeklerde yüksek oranda anöploidi ve poliploidili çekirdekler tespit edilmiş ve bu durumun mayoz bölünme esnasında meydana gelen kusurlardan kaynaklı olduğu belirtilmiştir (31-33).

Defekte sahip baş morfolojisi, spermdeki DNA hasarının bir göstergesidir. Yapılan bir çalışmada DNA fragmantasyonu %20'den büyük olan spermelerde büyük, küçük, uzamış, amorf baş ve nükleer defektler oldukça yüksek görülmüştür (34).

Prisant ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada varikozel tanımlanmış hastalarda uzamış baş defektlerinde artış gözlemlenmiştir. Uzamış baş defektine sahip spermelerde kromatin kompaksiyonlarında bozulma ve kromozom anöploidilerinde kısmi artışlar bulmuşlardır (35).

Sperm Baş Defektlerinin Fertilizasyona Etkisi

Morfolojik anomaliler spermin fertilizasyonunu değişik oranlarda olumsuz etkilemektedir. Anormal spermeler, anomalilerin tiplerine bağlı olarak genellikle düşük bir fertilizasyon potansiyeline sahiptir. Spermelerin oosite ulaşmasında da etkili olan baş anomalileri nedeniyle spermeler zona pellusidaya penetre olamaz ve fertilizasyon

gerçekleştiremezler. De Vos ve ark.'na göre spermdeki baş defektleri düşük fertilizasyon oranları ve kötü embriyo kalitesi ile ilişkilidir (36). Bir başka çalışma ise Cebesoy ve ark. tarafından yürütülmüştür. Bu çalışmada sperm morfolojisi ile DNA hasarı arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. ICSI'de sperm morfolojisinin fertilizasyon oranlarını etkilediği belirtilmiş ancak De Vos ve ark.'nın aksine sperm morfolojisi ile embriyo kalitesi ilişkisinin anlamlı olmadığı vurgulanmıştır (37).

Menkveld ve ark. akrozomla ilgili yaptığı bir çalışmalarında akrozom boyutunun, sperm fonksiyonu ve erkek üreme potansiyelinin fizyolojik kapasitesini yansıttığını öne sürmüşlerdir. Aynı çalışmada küçük akrozoma sahip spermelerin hücre ölümüne ve akrozomal kayba daha yatkın olduğu ortaya koyulmuştur. Bu nedenle akrozomun gelişiminde ve fonksiyonunda meydana gelebilecek eksiklik veya bozukluklar fertilizasyonu engelleyici sebep olabilmektedir (38). Chemes ve Vanesa fertil erkeklerde akrozom eksikliğinin %0.5 gibi az bir miktarda bulunduğunu ancak bu miktarın infertilite durumunda %2-3 civarına kadar artış gösterebildiğini belirtmişlerdir (20).

Akrozomal hipoplaziye sahip 10 infertilite hastasında gerçekleştirilmiş bir çalışmada bu hastaların spermelerinin zona

pellusidaya bağlanabilme kabiliyetlerinin bulunduğu ancak kontrollerle karşılaştırıldıklarında %10 daha az akrozomal reaksiyon geçirdikleri tespit edilmiştir (39).

Kahraman ve ark.'nın megalohhead sperm formları kullanılarak Kruger katı değerlendirmesine göre yaptıkları bir çalışmada; kontrol grubu fertilizasyon oranları %60.2, megalohhead spermilerin fertilizasyon oranları %43.2 olarak elde edilmiştir. Buna göre megalohhead spermilerin çiftlerde ICSI ile düşük fertilizasyon ve gebelik oranlarına sebep olduğu sonucu ortaya konmuştur (40). Rouso ve ark.'nın priform baş spermilerle yaptığı bir çalışmada; normal bir sperm baş kısmına göre priform baş sperm baş boyun, kuyruk ve sitoplazmik droplet defektleri daha yoğun görülmüştür ve bu da fertilizasyonu engelleyici sebep olarak ortaya çıkmaktadır (41).

Katz ve ark.'nın amorf ve priform baş spermilerle yaptığı bir çalışmada ise belirtilen baş defektlerine sahip sperm hücrelerinin normal sperm hücrelerine göre daha yavaş motilite hareketi sergiledikleri belirtilmiştir. Motilite azlığı spermilerin fertilizasyon bölgesine ulaşmasını engelleyici sebeplerden bir tanesidir. Motilitesi az olan spermiler fertilizasyon bölgesi olan ampullaya ulaşip, ovumu fertile edemezler (42).

Uzamış baş defektleri ile ilgili yapılan çalışmalarda fertil erkek semenlerinde %5.9, subfertil erkek semenlerinde %22 oranında görülmüştür. Osawa ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada da uzamış baş defektine sahip spermilerin düşük fertilizasyon oranlarına sahip olduğu bulunmuştur (43).

Lee ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada da kromozomal anomalilere vurgu yapılmıştır. Amorf, yuvarlak ve uzamış baş defektine sahip spermilerle yürütülen bu çalışmada kromozom anomalisi sıklıklarının normal başlı spermilere göre dört kat yüksek olduğu vurgulanmıştır (44). Yuvarlak başlı spermilerin oositi aktive yada fertilize etme yeteneğinden yoksun olduğu tespit edilmiştir (45).

Fertilizasyon oranlarını düşürmesinin yanında anormal başa sahip spermilerden gelişen embriyoların normal bir gebelik olarak devam etme şansları da düşük bulunmuştur (46,47).

Sonuç

Sonuç olarak, bozuk morfolojili spermilerden özellikle baş defektine sahip olanların fertilizasyonu gerçekleştirme oranları oldukça düşüktür. Oosit aktivasyonu ve fertilizasyonunda normal baş morfolojisi önemli bir yer tutmaktadır. Baş defektleri başın yapısına, akrozom ve nükleusuna bağlı olarak farklı şekillerde gelişebilmektedir ve defektlerin oranı ne

kadar yüksekse fertilizasyon kabiliyeti de o kadar azalmaktadır. ICSI gibi yöntemlerle baş defektlerine sahip spermlerden gebelik bir şekilde gerçekleştirilse bile, defektli spermelerin kromozal anomalilere sahip olabileceğinden dolayı, abortus ve anomalili çocuk doğumlarına sebebiyet verebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle

sperm hücrelerindeki morfolojik defektlerin son derece iyi tayin edilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- World Health Organization. WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen, 5th ed. Geneva. WHO Press, 2010.
- Demirci H. İnfertilitenin çiftler üzerindeki psikososyal ve psikoseksüel etkileri. Nezihe Kızılkaya Beji (Ed). İnfertilite Sorunu, Yardımcı Üreme Teknikleri ve Hemşirelik Yaklaşımı. F.N Hemşirelik Yüksekokulu Yayını. 2001; 103-17. İstanbul: Emek Matbaacılık.
- Gomel V, Urman B, Yarali H. Investigation of the infertile couple. In: Aksel S, Beksac S, editors. Reproductive Endocrinology and Infertility. 1993;143-55. Ankara: Medical Network.
- Irvine DS. Epidemiology and aetiology of male infertility. Hum Reprod. 1998;13(1):33-44.
- Erdemir F, Fırat F, Gençten Y. Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. Turk Urol Sem. 2011;2:11-17.
- Aydos K, Ünlü C, Demirel C. Relation of the morphological alterations of spermatozoa with motility. J Turkish German Gynecol Assoc. 2000;1:5-8.
- Liu DY, Baker HWG. Morphology of spermatozoa bound to the zona pellucida of human oocytes that failed to fertilize in vitro. J Reprod Fert. 1992;94:71-84.
- Koyuncu İ, Özdamar S. Varikoselli hastalarda sperm morfolojisinin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Dergisi. 2009;18(1):1-9.
- Orhon E. Sperm Morfoloji Atlası. Türkiye İnfertilite Vakfı Yayınları, 1995.
- Gedikli S, Özbek E, Demirci T. Fertilizasyonun moleküler temeli. Van Tıp Dergisi. 2013;20(4):294-300.
- Abraham L. Kierszenbaum. Çev. Ed. Demir R. Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006.
- Junqueira JC, Carneiro J. Çev. Ed. Solakoğlu S, Aytekin Y. Temel Histoloji, Text & Atlas. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.
- Sadler TW. Langman's Medical Embryology. 12th edn. Lippincott Williams&Wilkins, 2012.
- Ross. M. H. Histology a Text and Atlas with Cell and Molecular Biology, Fourth Edition, Lippincott Williams&Wilkins, 2003.
- Zaneveld LJ, De Jonge CJ, Anderson RA, Mack SR. Human sperm capacitation and the acrosome reaction. Hum Reprod. 1991;6(9):1265-74.
- Esteves SC, Verza S. Relationship of in vitro acrosome reaction to sperm function: an update. The Open Reprod Sci J. 2011;3:72-84.
- Delilbaşı L. İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. Güneş Tıp Kitabevi, İstanbul, 2008.
- Florman HM, Jungnickel MK, Sutton KA. Regulating the acrosome reaction. Int J Dev Biol. 2008;52(5-6): 503-510.
- Kuo PL, Chiang HS, Wang YY, Kuo YC, Chen MF, Yu IS et al. SEPT12-microtubule complexes are required for sperm head and tail formation. Int J Mol Sci. 2013;14:22102-22116.
- Chemes HE, Vanesa YR. Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men. Hum Reprod 2003;9(5):405-428.
- Chen Z, Isaacson KB, Toth TL, Godfrey-Bailey L, Schiff I. Temporal trends in human semen parameters in New England in the United States, 1989-2000. Arch Androl. 2003;49:369-374.
- Bianchi PG, Manicardi GC, Urner F, Campana A, Sakkas D. Chromatin packaging and morphology in ejaculated human spermatozoa: evidence of hidden anomalies in normal spermatozoa. Mol Hum Reprod. 1996;2:139-144.
- Sathananthan AH, Deen F. Microscopic images of human sperm, oocytes, embryos for a assisted reproductive technology including embryonic stem cells. 2014
- Kihaila P, Hirotsuru K, Kumasako Y, Misumi J, Utsunomiya T. Fertilization rates of small-headed sperm in conventional IVF and ICSI. Arch Androl. 2003;49:327-329.
- Menkveld R, Holleboom CAG, Rhemrev J.P.T. Measurement and significance of sperm morphology. Asian J of Androl. 2011;13:59-68.
- Kupker W, Schulze W, Diedrich K. Ultrastructure of gametes and intracytoplasmic sperm injection: the significance of sperm morphology. Hum Reprod. 1998;13(1):99-106.
- Taşkıran Ç, Başaran A, Günalp GS. Globozoospermi: erkek infertilitesinde son nokta. Turkish J Obst Gynecol. 2005;2(4):273-278.
- Chemes HE, Sedo CA. Prognostic value of various sperm pathologies. Asian J of Androl. 2012;14:14-23.
- Rybouchkin AV, De Sutter P, Dhont M. Unprotected freezing of human spermatozoa exerts a detrimental effect on their oocyte activating capacity and chromosome integrity. Zygote. 1996;4(4):263-268.
- Moretti E, Collodel G, Scapigliati G, Cosci I, Sartini B, Baccetti B. 'Round head' sperm defect. Ultrastructural and meiotic segregation study. J Submicrosc Cytol Pathol. 2005;37(3-4):297-303.
- Viville S, Mollard R, Bach ML, Falquet C, Gerlinger P, Warter S: Do morphological anomalies reflect

- chromosomal aneuploidies? *Hum Reprod.* 2000;15:2563-2566.
32. Yakin K, Kahraman S. Certain forms of morphological anomalies of spermatozoa may reflect chromosomal aneuploidies. *Hum Reprod.* 2001;16:1779-1780.
 33. Benzacken B, Gavelle FM, Pont BM, Dupuy O, Lievre N, Hugues JN, Wolf JP: Familial sperm polyploidy induced by genetic spermatogenesis failure: case report. *Hum Reprod.* 2001; 16(12):2646-2651.
 34. Daris B, Goropevsek A, Hojnik N, Vlaisavljevic V. Sperm morphological abnormalities as indicators of DNA fragmentation and fertilization in ICSI. *Arch Gynecol Obstet.* 2010;281:363-367.
 35. Prisant N, Escalier D, Soufir JC, Morillion M, Schoevaert D. Ultrastructural nuclear defects and increased chromosome aneuploidies in spermatozoa with elongated heads. *Hum Reprod.* 2007;22:1052-1059.
 36. De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem A. Influence of individual sperm morphology on fertilisation, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2003;79:42-48
 37. Cebesoy FB, Ünlü C, Aydos K, Baltacı V. Sperm morfolojisi ve acridine orange boyamanın ICSI'deki fertilizasyon oranları ve embriyo kalitesi ile ilişkisi. *J Turkish-German Gynecol Assoc.* 2006;(2):110-114.
 38. Menkveld R, El-Garem Y, Schill WB, Henkel R. Relationship between human sperm acrosomal morphology and acrosomal function. *J Assist Reprod Genet.* 2003;20:432-438.
 39. Liu DY, Baker HW. Disordered acrosome reaction of spermatozoa bound to the zona pellucida: a newly discovered sperm defect causing infertility with reduced sperm-zona pellucida penetration and reduced fertilization in vitro. *Hum Reprod.* 1994;9:1694-700.
 40. Kahraman S, Akarsu C, Cengiz G, Dirican K, Sozen E, Can B, Guven C, Vanderzwalmen P. Fertility of ejaculated and testicular megalohed spermatozoa with intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1999;14(3): 726-730
 41. Rousso D, Kourtis A, Mavromatidis G, Gkoutzioulis F, Makedos G. Pyriform head: a frequent but little-studied morphological abnormality of sperm. *Arch Androl.* 2002;48:267-272.
 42. Katz DF, Diel L, Overstreet JW. Differences in the movement of morphologically normal and abnormal human seminal spermatozoa. *Bio of Reprod.* 1982;26:566-570.
 43. Osawa Y, Sueoka K, Iwata S, Shinohara M, Kobayashi N, Kuji N, Yoshimura Y. Assessment of the dominant abnormal form is useful for predicting the outcome of intracytoplasmic sperm injection in the case of severe teratozoospermia. *J Assist Reprod Genet.* 1999;16(8):436-442.
 44. Lee JD, Kamiguchi Y, Yanagimachi R. Analysis of chromosome constitution of human spermatozoa with normal and aberrant head morphologies after injection into mouse oocytes. *Hum Reprod.* 1996;11:1942-1946.
 45. Khalili MA, Kalantar SM, Vahidi S, Zadeh MG. Failure of fertilization following intracytoplasmic injection of round-headed sperm. *Ann Saudi Med.* 1998;18(5):408-411.
 46. Taşdemir I, Taşdemir M, Tavukçuoğlu Ş, Kahraman S, Biberoglu K. Effect of abnormal sperm head morphology on the outcome of intracytoplasmic sperm injection in humans. *Hum Reprod.* 1997;12(6):1214-1217.
 47. Donnelly ET, Lewis SEM, McNally JA. In vitro fertilization and pregnancy rates: the influence of sperm motility and morphology on IVF outcome. *Fertil Steril.* 1998;70:305-314.