

## VARIKOSELLİ HASTALARDA SPERM MORFOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ Evaluation of Sperm Morphology in Patients with Varicocele

İdris KOYUNCU<sup>1</sup>, Saim ÖZDAMAR<sup>2</sup>

**Özet:** Pampiniform pleksustaki testiküler venlerin anormal genişlemesi olarak tanımlanan varikosel çoğunlukla, etkilenen testisin hacmindeki bir azalma ile ilişkilidir. Varikosel erkek infertilitesinin önemli nedenlerinden biridir ve fertilitede ilerleyen bir azalmaya sebep olur. Bu çalışmanın amacı, varikoselli hastalarda sperm ve semen parametrelerini değerlendirerek semen kalitesi ve sperm morfolojisini belirlemektir. Varikosel tanısı konmuş toplam 52 hastadan semen örnekleri elde edildi. Semen örnekleri 3 günlük cinsel perhizden sonra masturbasyonla toplandı. Likefaksiyondan sonra, semen analizi Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre Makler kamera ile yerine getirildi. Sperm morfolojisi Diff-Quick boyama tekniği kullanılarak değerlendirildi.

Bu çalışmada hastaların A+B hareketli sperm oranı ortalaması %30.8'di. A+B hareketli sperm oranı %50'nin altında olan hasta sayısı 49 (%94.3) olup A hareketli sperm oranının ortalaması %10.9 olarak bulundu. Hastaların B hareketli sperm oranının ortalaması %19.9 olarak bulundu. 52 hastanın 44'ünde (%84.7) normal sperm morfoloji oranı %30'un altında idi. Tüm hastalarda normal sperm morfoloji ortalaması ise %13.7 olarak bulundu. Baş, boyun ve kuyruk anomalileri sırasıyla %61.8, %15 ve %8.3'tü. 52 hastanın yaşı 21 ile 38 arasında (ortalama 30) değişmekteydi. Yaş ile toplam motilite ( $p>0.05$ ) ve yaş ile toplam anormal sperm morfolojisi arasında ( $p>0.05$ ) korelasyon bulunmadı. Sonuç olarak, varikoselin sperm yapısı ve fonksiyonu üzerinde negatif bir etkiye sahip olduğu belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** Varikosel, spermiogram, Sperm morfolojisi

**Summary:** Varicocele, defined as an abnormal dilation of the testicular veins in the pampiniform plexus, is often associated with a reduction in the volume of the affected testicle. Varicocele is an important cause of male infertility and it causes a progressive decrease in fertility status. The aim of this study is to examine the semen quality and sperm morphology in patients with varicocele using sperm and semen parameters. Semen samples were obtained from a total of 52 patients diagnosed with varicocele. Semen samples were collected by masturbation after 3 days of sexual abstinence. After semen liquefaction, seminal analysis was performed using Macler camera according to WHO criteria, and sperm morphology was evaluated by using Diff-Quick staining technique. In this study, the A+B motile sperm ratio average of the patients was 30.8%. The number of patients whose motile sperm ratio was below 50% is 49 (94.3%), and the average of the A-motile sperms proved to be 10.9%. The average of B-motile sperms of the patients was discovered 19.9%. In 44 of the 52 patients (84.7%), the sperm morphology ratio was below 30%. In all the patients, the normal sperm morphology mean was 13.7%. The head, neck and tail anomalies were 61.8%, 15%, and 8.3% successively. The ages of the 52 patients varied between 21 and 38 years (with an average of 30). No correlation between age and total motility ( $p>0.05$ ) and age and total abnormal sperm morphology ( $p>0.05$ ) has been discovered. In conclusion, it is understood that it has got a negative effect on the varicocele sperm structure and function.

**Key words:** Varicocele, spermiogram, sperm morphology

<sup>1</sup> Bilim Uz.Erciyes Ün.Sağlık Bil.Ens.Hist-Emb.AD, Kayseri

<sup>2</sup> Prof.Dr.Erciyes Ün.Tıp Fak.Hist-Emb.AD, Kayseri

Geliş Tarihi : 15.01.2009 Kabul Tarihi : 09.03.2009

**\*Bu çalışma, 20-23 Mayıs 2008 tarihleri arasında Çukurova Üniversitesi tarafından düzenlenen IX. Histoloji ve Embriyoloji Kongresinde poster olarak sunulmuştur.**

Semen, spermatozoonlar, testis ve epididimis, prostat, seminal veziküller ve bulboüretal bezlerin salgularından oluşur. Sperm sayısı ve semen parametreleri ile fertilité arasında sıkı bir ilişki vardır ve anormal yapıdaki spermatozoonların fertilité yetenekleri yoktur. Morfolojik değerlendirmenin başlıca amacı normal ve anormal spermatozoonların ayırt edilmesini sağlayarak spermatozoon kalitesini ortaya koymaktır. Fertilizasyonda önemli rol oynadığından, morfolojik incelemelerde akrozomun da ayrı bir önemi vardır (1-3). Varikosel, testiküler venlerin ve pampiniform pleksusun anormal torsiyonu ve dilatasyonudur ve geri venöz akışla karakterizedir. Varikoselin etyolojisi ile ilgili tartışmalar bulunmakla birlikte, venöz kapakların yetersizliği veya yokluğu, kollateral damar ve/veya vena kava inferior ile sol renal ven arasında artmış basınç yoğunluğuna bağlı gelişebildiği düşünülmektedir (4-8). Varikosel, testiküler venlerdeki geri akımla belirlenen, testiküler venlerin ve pampiniform pleksusun anormal tıkanma sonucu genişleyip kıvrılması sonucu gelişen bir rahatsızlıktır (9,10). Varikoselin gelişimi ile ilgili değişik görüşler olup venöz kapakların yetersizliği veya yokluğu, kollateral damar veya inferior vena kava ile sol renal ven arasında artmış basınç en büyük nedenler arasında sayılmaktadır (11,12).

Bu çalışmanın amacı, varikoselin spermatozoon morfolojisi üzerine etkisini araştırmaktır.

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji polikliniğine gelen ve varikosel tanısı konan toplam 52 hastanın sperm örnekleri üzerinde yapıldı. Hastalardan alınan semen örnekleri 37° C'de 1 saat inkübe edilerek likefiye edildi, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre; sayı, motilite, volüm, pH ve Diff-Quick ile morfoloji yönünden değerlendirildi. Sayı ve motilite Makler kamera ile değerlendirildi. Elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda 100'lük objektifle incelendi ve fotoğraflanarak değerlendirmeye alındı. Sayımda spermatozoonlar; Makler kamerası ile değerlendirmede ileri-düz hareketle 5 saniye içinde geçenler A

hareketli, yavaş ya da doğrusal olmayan hareketli geçenler B hareketli, yerinde hareket edip duranlar C hareketli, kımıldamadan duranlar ise D hareketli olarak değerlendirildi (13).

Çalışmada elde edilen veriler SPSS 15,0 istatistik paket programında değerlendirildi. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediğine Kolmogorov-Smirnov normallik testi ile bakıldı. Normal dağılım gösteren nicel değişkenler arasındaki ilişkiye Pearson Korelasyon Analizi ile normal dağılım göstermeyen nicel değişkenler arasındaki ilişkiye Spearman Korelasyon Analizi ile bakıldı. P<0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## **BULGULAR**

İncelenen varikoselli 52 hastanın yaş ortalaması 30'du. Hastaların 23'ü (%44) 20–29 yaş arası, 29'u (%56) 30–38 yaş arasındaydı. Hastaların semen miktarı 0.9 cc ile 6.2 cc arasında değişmekteydi (ortalama 3.16 cc). Semen hacmi açısından hastaların % 87'si (45 hasta) normal sınırlarda, %13'ü (11 hasta) anormaldi (3'ü; %5.6 hiperspermi, 4'ü; %7.5 hipospermi). Hastaların spermatozoon sayısı 200 bin/ml ile 144 milyon/ml arasında değişmekteydi (ortalama 36,5 milyon/ml). Spermatozoon sayısı 200 bin/ml ile 20 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 17 (%33) (oligozoospermi), 20 milyon/ml ile 144 milyon/ml arasında olan 35'di (%67) (normospermi).

Hastalarda semendeki A %'si 0 ile 28 arasında değişmekte olup hareketli spermatozoon ortalama % 10.9 idi. A hareketli spermatozoon oranı sıfır olan hasta sayısı 9 (%17), A hareketli spermatozoon oranı %25'in altında olan hasta sayısı 51'dir (%98). A hareketli spermatozoon oranı normal olan hasta sayısı ise birdir (%1.9). Hastaların semenlerinde B hareketli spermatozoonların ortalaması %19.9, B hareketli spermatozoon oranı sıfır olan hasta sayısı 4 (%7.6), B hareketli spermatozoon oranı %25'in altında olan hasta sayısı 40'tır (%77). B hareketli spermatozoon oranı normal olan hasta sayısı ise 12'dir (%23). A+B hareketli spermatozoon oranı ortalaması %30.8'dir. A+B hareketli spermatozoon oranı sıfır olan hasta sayısı 3 (%5,7), A+B hareketli

oranı %50'nin altında olan hasta (astenozoospermia) sayısı 49'dur (%94.3). A+B hareketli spermatozoon oranı normal olan hasta sayısı 3'tür (%5,7). C hareketli spermatozoon ortalaması %12.9, C hareketli oranı sıfır olan hasta sayısı 1 (%1.9), C hareketli oranı %25'in altında olan hasta sayısı 48'dir (%92.3). C hareketli spermatozoon oranı %25'in üstünde olan hasta sayısı 4'tür (%7.7). D hareketli spermatozoon sayısı ortalaması %56'dır, D hareketli spermatozoon sayısı oranı %25'in altında olan yoktu. Hastaların tamamında D hareketli oranı %25 ve üzeri idi.

Spermatozoonlarının tamamı hareketsiz (Nekrozoospermia) olan hasta sayısı 1'dir (%1.9).

Spermatozoonlarının tümünün normal olduğu hasta sayısı 8'di (%15.3). 52 hastanın 44'ünde (%84.7) morfoloji anormaldi (teratozoospermia) ve bu hastalarda normal morfolojideki spermatozoon sayısı %30'un altında idi. Hastaların 2'sinde (%3.8) spermatozoonlarının tamamı anormal morfolojiye sahipti (tam teratozoospermia). Tüm hastalarda normal spermatozoon morfoloji ortalaması ise %13.7 idi.

**Tablo I.** Varikoselli Hastaların semen volümü ve sperm özelliklerine göre dağılımı

	Yaş		Semen Volümü(ml)			Sperm Sayısı(milyon/ml)	
	20-29	30-38	Hiperspermi	Hiposperti	Normal spermi	Oligospermia	Normospermi
n	23	29	3	4	45	17	35
%	44	56	5.6	7.5	87	33	67

**Tablo II.** Varikoselli Hastaların semen volümü ve sperm özelliklerine göre dağılımı

	Sperm Morfolojisi		Anormal Morfolojilerin Dağılımı		
	Anormal Morf.	Normal Morf.	Baş Anomalisi	Boyun Anomalisi	Kuyruk Anomalisi
n	44	8	52	52	51
%	84.7	15.3	61.8	15	8.3

**Tablo III.** Varikoselli Hastaların spermlerinin hareketliliğine göre dağılımı ve spermlerin hareketlilik sınıflandırmasına göre dağılımı

	Sperm Hareketliliği			
	A Hareketli	B Hareketli	C Hareketli	D Hareketli
n	43	48	51	52
%	10.9	19.9	12.9	56

**Tablo IV.** Pearson Korelasyon Analizi (Motilite)

		Yaş	AB
Yaş	Korelasyon katsayısı	1,000	-,042
	Önemlilik değeri	.	,393
	Birim sayısı	52	52
AB	Korelasyon katsayısı	-,042	1
	Önemlilik değeri	,768	.
	Birim sayısı	52	52

AB: A+B hareketli

**Tablo V.** Pearson Korelasyon Analizi (Morfoloji)

		Yaş	AB
Yaş	Korelasyon katsayısı	1,000	-,120
	Önemlilik değeri	.	,398
	Birim sayısı	52	52
TOP.MOR.POZ	Korelasyon katsayısı	-,120	1,000
	Önemlilik değeri	,398	.
	Birim sayısı	52	52

TOP.MOR.BOZ: toplam morfoloji bozukluğu



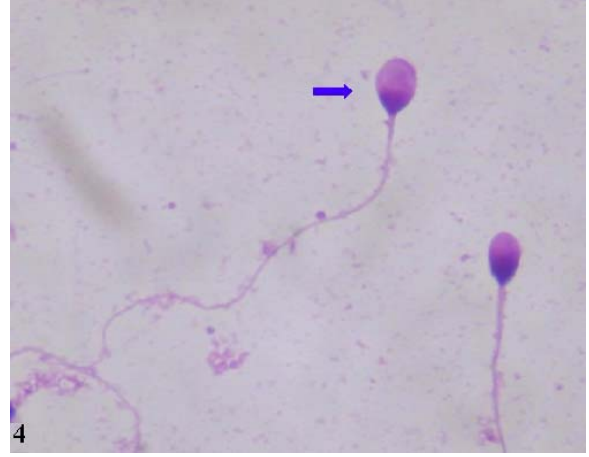
**Şekil 1.** Anormal spermatozoonlar yanında normal yapıda (ok) spermatozoon. Diff-Quick, X100.



**Şekil 2.** Büyük başa sahip spermatozoon (ok). Diff-Quick, X100.



**Şekil 3.** Tek kuyruğa sahip bir spermatozoonda çift baş (ok). Diff-Quick, X100.



**Şekil 4.** Başın ön bölgesinin büyük bölümünü işgal etmiş akrozomlu spermatozoon (ok). Diff-Quick, X100.



**Şekil 5.** Sitoplazmik droplet olgusuna sahip spermatozoon (ok). Diff-Quick, X100.



**Şekil 6.** Kalın kuyruklu bir spermatozoon (ok). Diff-Quick, X100.



**Şekil 7.** Kıvrık kuyruklu bir spermatozoon (ok).  
Diff-Quick, X100.



**Şekil 8.** Boyun bölgesinden itibaren çatallanmış  
çift kuyruğa sahip bir spermatozoon (ok).  
Diff-Quick, X100.



**Şekil 9.** Kuyruęu baş etrafında dolanarak dağ efekti  
oluşturan bir spermatozoon (ok). Diff-Quick, X100.

Spermatozoonların baş uzunluğu 5 µm'yi, eni 3 µm'yi geçenler büyük baş, baş uzunluğu 4 µm'den eni 2,5 µm'den az olanlar küçük baş olarak sınıflandırıldı. Normal spermatozoonların (Şekil 1) yanında, incelenen tüm semenlerde baş anomalileri mevcuttu (normal başa sahip spermlerin ortalama oranı %38.2, anormallerin oranı %61.8). Büyük baş (Şekil 2), küçük baş, armut şekilli baş, uzun baş, amorf baş, çift baş (Şekil 3) ve başsız spermatozoonlar gözlenmişti.

Akrozom anomalileri, büyük akrozumlu (Şekil 4), küçük akrozumlu, vakuollü akrozom ve akrozomsuz spermatozoonlar şeklinde görüldü. İncelenen varikoselli hastaların tamamında, boyun anomalisine sahip spermatozoonlar içeren semen bulunmaktaydı. Hastalarda, boyun anomalisi olan spermler toplam spermlerin %1 ile %43'ünü oluşturmaktaydı (ortalama %15). Baş ile boyun arasındaki açı 90°'den az olanlar boyun kırığı olarak tanımlanır. Sitoplazmik artıkların uzaklaştırılmadığı sitoplazmik droplet olgularında, boyun bölgesi üzerinde uzun, parçalı veya boyun üzerine yapışmış damlacıklar kırmızımsı renkleri ile ayırt edilmekteydi (Şekil 5).

Varikoselli hastaların yalnız birinin spermatozoonlarında (%1.9) kuyruk anomalisi gözlenmezken kalan 51 hastanın spermatozoonlarında (%98.1) kuyruk anomalisi bulunmaktaydı. İncelenen semenlerde, kuyruk anomalisi gösteren spermatozoon oranı da %8.3'tü. Spermatozoonlar; kısa kuyruklu, kalın kuyruklu (Şekil 6), sarmal kuyruklu (Şekil 7), sarmal halka kuyruklu ve tek halka kuyruklu şeklinde sınıflandırılırken çift kuyruk (Şekil 8) ve dağ efekti anomalileri de (Şekil 9) görülmüştü.

Veriler üzerinde yapılan istatistiksel değerlendirmelerinde, hastaların yaşı ile semenlerindeki toplam A+B hareketli spermatozoon oranı arasında anlamlı korelasyon olmadığı görüldü (p>0.05). Ayrıca yaş ile toplam morfoloji bozukluğu arasında da ilişki bulunmadı (p>0.05).

## TARTIŞMA

Kişiden kişiye farklılık gösterse de, varikosel sperm yapısını, sayısını, hareketliliğini değişik şekillerde etkileyebilmektedir; bazen tüm sperm parametrelerini etkileyebileceği gibi, sadece sayı, şekil veya hareket bozukluğuna da yol açabilmektedir (14,15).

Varikosel değişik yaş gruplarını etkileyen bir rahatsızlıktır. Genel olarak, genç hastaların kliniklere geliş şikâyeti infertilite, ileri yaşlardakilerin ağrı veya testisteki şişkinliktir. Buna göre, varikosel üzerindeki çalışmalarda yaş ortalamaları değişebilmektedir. Değişik çalışmalarda yaş ortalamaları 36.5 (16), 36 (17), 29.5 (18) ve 22 (19) gibi bir değişkenlik gösterebilmektedir. Bizim çalışmamızda değerlendirilen hastaların yaş ortalaması ise 30'du ve hastaların yaşı 21 ile 38 arasında değişmekteydi.

Varikoselli hastalarda sperm sayısının fertilité üzerine etkisinin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, varikoselli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda, sperm sayısı üzerinde özellikle durulmuştur. Schiff ve arkadaşları (20) 68 varikoselli hastada ortalama sperm sayının 9.5 milyon olduğunu göstermişlerdir. Diğer başka çalışmalarda ise bu ortalama 62.8 milyon (21) ve 18.4 milyon (16) olarak bulunmuştur. Bu çalışmada ise, ortalama sperm sayısı 36.5 milyondur.

Varikoselli hastalarda sperm motilitesinde önemli değişkenlikler vardır. A+B hareketli sperm değerlendirmesine göre, farklı çalışmalarda sperm motilitesinin %42.6 (20), %46.5 (16), %38 (22) ve %28 (6) değerleri ile oldukça değişken olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise bu değer %30.8'dir. Değerler arasındaki bu farklılığın hasta profilinden kaynaklandığını ve motilite değeri düşmesi ile infertilite oranının artışı arasında bir bağlantının olduğu düşünülmektedir. İnfertilitenin görüldüğü olgularda, en önemli patolojik özelliklerden biri normal sperm morfolojisindeki sapmalardır. Varikoselli hastalar üzerindeki çalışmalarda,

sperm morfolojileri normal ve anormal morfoloji şeklinde bir bütün olarak ele alınmış ve değerlendirmeler buna göre yapılmıştır. Bu çalışmada ise sperm morfolojileri; baş, boyun ve kuyruk anomalileri olarak ayrı ayrı incelendi ve spermlerinin tümünün morfolojik olarak normal olduğu hasta sayısı 8 (%15.3) olarak belirlendi, geri kalan 44 hastada (% 84.7) sperm morfolojisi anormal yapıdaydı (teratozoospermia) ve bu hastalarda normal morfolojideki sperm sayısı %30'un altında idi. Hastaların 2'sinde (%3.8) ise spermilerin tamamı anormal morfolojiye sahipti (tam teratozoospermia). Tüm hastalarda normal sperm morfolojisi ortalaması ise %13.7 idi. Diğer çalışmalarda tüm sperm içinde normal sperm oranları arasında farklılıklar gözlenmekteydi ve %10.5 (18), %15.4 (6), %3.6 (23) ve %42 (16) olarak belirtilmişti.

İlerleyici testis hasarı ile seyreden varikoselin spermatogenezi bozarak infertiliteye neden olabildiği ve semen anomalilerinin (sperm sayısı, motilite ve morfolojide bozulma), testiküler volümde azalma ve Leydig hücre fonksiyonunda azalmayla ilişkili olduğu gösterilmiştir (24). Genel popülasyonda %15 oranında bildirilen varikosel insidansı, infertil erkeklerde yaklaşık %35–40 olarak saptanmıştır. Varikoselektomi sonrası semen parametrelerinde % 50 ile %80 arasında düzelme olduğu, %30–40 oranında gebelik oluştuğu, testis boyutlarında ve histolojisinde belirgin iyileşme saptandığı çok geniş hasta grupları içeren çalışmalarla gösterilmiştir (25–27). Birçok araştırmacının vurguladığı şekilde, normal morfolojili sperm sayısı infertiliteye göre fertillerde daha yüksektir ve bundan dolayı morfoloji erkek fertilitésinin değerlendirilmesinde önemli bir faktör olarak kabul edilir (28).

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada varikoselli hastalarda yaş ile toplam A+B hareketli spermatozoon oranı ve yaş ile toplam morfoloji bozukluğu arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı belirlendi. Varkoselin sperm yapısı ve fonksiyonu üzerine olumsuz bir etkiye sahip olduğu gösterildi.

## KAYNAKLAR

1. Kass EJ, Belman AB. Reversal of testicular growth by varicocele ligation. *J Urol* 1997,137:145.
2. Blumer CG. Sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity in man with varicocele. *Fertility and Sterility* 2007,15:1-3.
3. Schiff JD. Correlation of ultrasound-measured venous size and reversal of flow with Valsalva with improvement in semen-analysis parameters after varicocelelectomy. *Fertility and Sterility* 2006,86:250-2.
4. Leboeuf B, Restall B, Salamon S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Sci* 2000,62:113-141.
5. Casey PJ, Hilman RB, Robertson KR, Yudin AI, Lu IKM, Drobnis EZ. Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. *J Androl* 1993,14 (4):289-297.
6. Özbek E, Türköz Y, Çekmen M. varikoselli hastaların seminal sıvısında preoperatif ve postoperatif antioksidan enzim aktivitesi. *Van Tıp Dergisi* 2000,7:6-9.
7. Nuhoğlu B. Subinguinal mikrocerrahi ve inguinal varikoselektominin semen ve hormon parametrelerine etkilerinin karşılaştırılması: 1 yıllık izlenim. *Türk Üroloji Dergisi* 2004,30:302-307.
8. Podesta M L, Gottlieb S, Medel R, Ropelato G. Hormonal parameters and testicular volume in children and adolescents with unilateral varicocele. *J Urol* 1994,152:794-798.
9. Greenberg SM. Varicocele and male infertility. *Fertil Steril* 1977,28:699-674
10. Schlesinger MH, Wilets IF, Nagler HM. Treatment outcome after varicocelelectomy. A critical analysis. *Urol Clin N Amer* 1994,21:517-20.



11. World Health Organization. The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. *Fertil Steril* 1992,57: 1289-1293.
12. Aitken RJ, Buckingham D, Harkiss D. Use of a xantine oxidase free radical generating system to investigate the cytotoxic effects of reactive oxygen species on human spermatozoa. *J Reprod Fert* 1993,97: 441-444.
13. Kruger TF, Ackermann SB, Simmons KF, Swanson RJ, Brugo SS. A quick, reliable staining technique for human sperm morphology. *Archives of Andrology* 1987, 18:275-7.
14. Kass E J, Belman A B. Reversal of testicular growth by varicocele ligation. *J Urol* 1997,137:145.
15. Leboeuf B, Restall B, Salamon S. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim Reprod Scien* 2000,62: 113-141.
16. Schiff JD. Correlation of ultrasound-measured venous size and reversal of flow with Valsalva with improvement in semen-analysis parameters after varicocelectomy. *Fertility and Sterility* 2006,86(1):250-2.
17. Ünal D, Erbağcı A, Güneş A, Ersay A, Semerciöz A, Satar N, Sarıca K. Adölesan varikoselde peripubertal testis boyut değişimleri. *Türk Üroloji Dergisi* 2002,28 (2): 161-165.
18. Nuhoğlu B, Göçen A, Ersoy E, Ayyıldız A, Fidan V, Germiyanoglu C. Subinguinal mikrocerrahi ve inguinal varikoselektominin semen ve hormon parametrelerine etkilerinin karşılaştırılması: 1 yıllık izlenim. *Türk Üroloji Dergisi* 2004,30 (3): 302-307.
19. Şahin C, Artan M, Yiğit T, Özbey İ, Aksoy Y, Okyar G. Ürolojide laparoskopi: 52 olgudaki deneyimlerimiz. *Türk Üroloji Dergisi* 2001,27 (4): 469-475.
20. Blumer CG, et al. Sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity in man with varicocele. *Fertility and Sterility* 2007,15(4):1-3.
21. Madgar I, Weissenberg R, Lunafeld B, Goldwasser B. Controlled trial of high spermatic vein ligation for varicocele in infertile men. *Fertil Steril* 1995,63:120
22. Yurdakul T, Gökçe G, Kısakol G, Kılınç M. İnfertil erkeklerde yüksek inguinal ve mikrocerrahi ile subinguinal varikoselektominin karşılaştırılması. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* 2003,56 (2):91-96.
23. Podesta M L, Gottlieb S, Medel R, Ropelato G. Hormonal parameters and testicular volume in children and adolescents with unilateral varicocele. *J Urol*. 1994,152:794-798.
24. Schlesinger MM, Willets IF, Nagler HM. Treatment outcomes after varicocelectomy. A critical analysis. *Urol Clin Nort Am* 1994,21:517-29
25. Cockett ATK, Takihara M and Cosentino MJ. The varicocele. *Fertil Steril* 1994,41:1-12.
26. Didion BA, Dobrinsky JR, Giles JR, Granes CN. Staining procedure to detect viability and the true acrosome reaction in the spermatozoa of various species. *Gamete Res* 1989,22 (1): 51-57.
27. Hendry VVF, Sommerville IF, Hail RR. Investigation and treatment of the subfertile male. *J Urol* 1993,45: 684-692
28. Oehninger S, Kruger T. The diagnosis of male infertility by semen quality: Clinical significance of sperm morphology assesment. *Human Reprod* 1995,10(5):1037-1038.