

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**SPERM HAREKETLİLİĞİNİN BELİRLENMESİNDE
MAKLER SAYIM KAMARASI VE ISLAK PREPARAT İLE
ELDE EDİLEN SONUÇLARIN TUTARLILIK DÜZEYLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif DURMUŞ

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar SUNAY

İkinci Tez Danışmanı

Öğr. Gör. Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU

BALIKESİR-2019

TC
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**SPERM HAREKETLİLİĞİNİN BELİRLENMESİNDE MAKLER
SAYIM KAMARASI VE ISLAK PREPARAT İLE ELDE EDİLEN
SONUÇLARIN TUTARLILIK DÜZEYLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif DURMUŞ

TEZ SINAV JÜRİSİ

**Prof. Dr. Mehmet Faruk AYDIN
Balıkesir Üniversitesi - Başkan**

**Doç. Dr. Berrin AVCI
Bursa Uludağ Üniversitesi - Üye**

**Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar SUNAY
Balıkesir Üniversitesi - Üye**

Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar SUNAY

İkinci Tez Danışmanı

Öğr. Gör. Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU

Bu araştırma; Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2017/65 nolu proje ile desteklenmiştir.

BALIKESİR-2019



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KABUL VE ONAY

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan

**“SPERM HAREKETLİLİĞİNİN BELİRLENMESİNDE
MAKLER SAYIM KAMARASI VE ISLAK PREPARAT İLE
ELDE EDİLEN SONUÇLARIN TUTARLILIK DÜZEYLERİ ”**

başlıklı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 18/07/2019

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet Faruk AYDIN
Balıkesir Üniversitesi
Başkan

Doç. Dr. Berrin AVCI
Bursa Uludağ Üniversitesi
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar
SUNAY
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Yüksek Lisans Tezi, sınav jüri komisyonu tarafından imzalanarak
23/07/2019 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. İzzet KARAHAN
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlamasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim. (18/07/2019)



Elif DURMUŞ

TEŐEKKÜR

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen danıőman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Fatma Bahar SUNAY'a ve Öğr. Gör. Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU'na, tezin istatistiksel çalıőmalarına olan katkısından dolayı Doç. Dr. Mesut SAÇKES'e, yüksek lisans çalışmam boyunca tezime büyük katkı sağlayan ve her konuda desteğini aldığım arkadaşım Arő. Gör. Nursel HASANOĞLU AKBULUT'a, çalışmam boyunca iyi niyetini, sabrını ve yardımlarını gördüğüm laboratuvar çalışma arkadaşım Funda GÜNGÖR'e teőekkür ederim.

Hayatım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim, yüksek lisans çalışmam boyunca yaşadığım tüm zorluklara rağmen bana hayallerimi unutturmayan ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen babam Abdullah DURMUŞ'a, annem Songül ALAZKAN'a ve kardeőim Ebru DURMUŞ'a sonsuz teőekkürler.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testis Gelişimi.....	4
2.2. Testis Anatomisi.....	6
2.3. Testis Histolojisi ve Genel Yapısı.....	7
2.3.1. Seminifer Tübüller.....	10
2.3.2. Sertoli Hücreleri.....	11
2.3.3. Leydig Hücreleri.....	12
2.4. Erkek Genital Boşaltım Yolları	14
2.4.1. İntratestiküler Kanallar	14
2.4.2. Ekstratestiküler Kanallar.....	16
2.4.3. Üretra.....	17
2.5. Yardımcı Üreme Bezleri.....	17
2.5.1 Seminal Vezikül.....	17
2.5.2. Prostat Bezi.....	18
2.5.3. Bulboüretral Bez.....	19
2.6. Penis.....	19
2.7. Spermatogenez.....	20
2.8. Spermiyogenez.....	22
2.9. Spermatozoon.....	24
2.9.1. Spermatozoon Genel Yapısı.....	24
2.9.2. Spermatozoon İletimi.....	25

2.10. Ejakülat Oluşumu.....	26
2.11. İnfertilite ve Erkek İnfertilitesi.....	27
2.12. Semen Analizi.....	30
2.12.1. Semen Numunesinin Toplanması.....	34
2.12.2. Semen Makroskopik Değerlendirmesi.....	35
2.12.3. Semen Mikroskopik Değerlendirmesi.....	37
2.12.4. Normal Semen Örneğinin Özellikleri ve Alt Sınır Değerleri.....	53
2.12.5. Semen Analizi Terminolojisi.....	55
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	56
3.1. Hasta Seçimi.....	56
3.2. Semen Numunelerinin Eldesi	56
3.3. Semen Analizi Testinde Uygulanan İşlemler.....	57
3.4. Sperm Motilite Değerlendirmesi.....	58
3.4.1. Makler Sayım Kamarası ile Motilite Belirleme.....	58
3.4.2. Islak Preparat ile Motilite Belirleme.....	60
3.5. Vitalite.....	61
3.6. Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz.....	64
4. BULGULAR.....	65
4.1. Semen Analizi Bulguları.....	65
4.2. a Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi.....	68
4.3. b Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi.....	72
4.4. c Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi.....	76
4.5. d Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi.....	80

4.6. Hareketli Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi.....	84
5. TARTIŞMA.....	88
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	94
KAYNAKLAR.....	97
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	113
EK-2. ETİK KURUL ONAYI.....	114
EK-3. ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU.....	115



ÖZET

Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası Ve Islak Preparat İle Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri

İnfertilite vakalarının yaklaşık yarısından erkeğe bağlı nedenler sorumludur. Erkek üreme işlevinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntem spermiyogramdır. Semen analizi sonuçlarının hem rutin klinik uygulamada hem de bilimsel araştırmalarda fayda sağlayabilmesinin ilk şartı testin tüm laboratuvarlarca aynı şartlarda ve biçimde gerçekleştiriliyor olmasıdır.

Bu çalışmanın amacı; semen analizi sırasında sperm hareketliliğini belirlemek amacıyla kullanılan iki farklı yöntem olan Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemlerinden elde edilen sonuçları karşılaştırmaktır. Makler Sayım Kamarası rutinde laboratuvarlarca çok sık tercih edilen yöntemdir, Islak Preparat ise Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün yayınladığı Laboratuvar El Kitabı'nda önerdiği hareket belirleme yöntemidir.

Çalışmaya, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Androloji Laboratuvarı'na semen analizi için başvuran 100 gönüllü dahil edildi. Hareketli sperm oranı Makler Sayım Kamarası sonuçlarına göre % 50.68 (± 19.13), Islak Preparat yöntemine göre % 57.83 (± 15.6) olarak bulundu. İki farklı yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif korelasyon olduğu ($r=0.86$) görüldü. Ancak, sonuçlar arasındaki tutarlılık Bland-Altman yöntemi ile analiz edildiğinde, Makler Sayım Kamarasının Islak Preparata oranla, sperm hareketliliğini yaklaşık %7.15 daha düşük bulduğu belirlendi.

Sonuç olarak, sperm hareketliliği Makler Sayım Kamarası ile belirlendiğinde, Islak Preparata oranla, daha düşük değerler elde edildiği bu nedenle WHO tarafından önerilen yöntem olan Islak Preparatın kullanılmasının tercih edilmesi gerektiği sonucuna varıldı. Güvenilir sonuçlar elde etmenin önemi açısından tekrarlanabilir yöntemin seçilmesi ve örnek sayısının artırılması elde edilen verilerin karşılaştırılması için yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Bland-Altman, Islak Preparat, Makler Sayım Kamarası, Semen Analizi, Sperm Hareketliliği.

ABSTRACT

Stability Level of Results in Specifying Sperm Motility by Makler Counting Chamber and Wet Preparate

Males are responsible from almost half of the infertility problems. Semen analysis is the most common method used to evaluate male reproductivity function. One of the first requirements for semen analysis to provide reliable results for both clinic and scientific use is to realize the testing under the same conditions in the same way.

The objective of this study is to compare the results obtained from two different methods used to specify sperm motility which are Makler Counting Chamber and Wet Preparate. Makler Counting Chamber is a common method preferred by most of the laboratories and the Wet Preparate is advised by World Health Organization in the their publication Laboratory Handbook.

The study includes 100 volunteers who applied to Balikesir University Hospital for semen analysis. Sperm motility rate was found as 50.68 % (± 19.13) by applying Makler Counting Chamber method and 57.83 % (± 15.6) by applying Wet Preparate method. A positive correlation was found between the methods after comparing the results obtained from the them. However, it was spotted that the sperm motility result obtained by Makler Counting Chamber was found 7.15 % less than Wet Preparate in comparison when analyzed by Bland-Altman method for verification.

In conclusion, lower sperm motility rates were found when Makler Counting Chamber method applied in comparison to the Wet Preparate method, so Wet Preparate method that was advised by WHO should be preferred as a method. In terms of obtaining reliable results, preference of iterative methods and increasing number of samples will be beneficial to compare the outputs obtained.

Key Words: Bland-Altman, Makler Counting Chamber, Semen Analysis, Sperm Motility, Wet Preparate.

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ESHRE	: Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
ÜYTE	: Üremeye Yardımcı Tedavi
AUA	: Amerikan Üroloji Derneği
ASRM	: Amerikan Üreme Tıbbı Derneği
TESE	: Testiküler Sperm Ekstraksiyonu
ICSI	: İntrastoplazmik Sperm Enjeksiyonu
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
MIS	: Müllerian İnhibe Edici Madde
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
LH	: Luteinleştirici Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
SRY	: Cinsiyet Belirleyici Bölge
AR	: Akrozom Reaksiyonu
TZI	: Teratozoospermi İndeksi
PR	: Progresif Hareket
NP	: Nonprogresif Hareket
IM	: İmmotilite
VP	: Progresyon Ortalama Hızı
AH	: Progresif Spermin Progresyon Eksen

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Erkek Üreme Sistemi Şematik Çizimi.....	3
Şekil 2.2. Testis Anatomisi.....	7
Şekil 2.3. Testis Kesiti.....	8
Şekil 2.4. Testis Genel Yapısı.....	9
Şekil 2.5. Seminifer Tübül, Sertoli ve Leydig Hücreleri.....	10
Şekil 2.6. Testis Kesiti.....	15
Şekil 2.7. Prostat Bezi.....	19
Şekil 2.8. Penis Enine Kesiti.....	20
Şekil 2.9. Spermatogenez.....	22
Şekil 2.10. Spermiyogenez.....	23
Şekil 2.11. Sperm Hücresi.....	25
Şekil 2.12. Semen Makroskopik İncelenmesi.....	37
Şekil 2.13. Agregasyon.....	40
Şekil 2.14. Aglutinasyon Şematik Çizimi ve Dereceleri.....	40
Şekil 2.15. Lam-Lamel Arası Islak Preparat ile Hazırlanan Semen Görünümü....	44
Şekil 2.16. Makler Sayım Kamarası.....	45
Şekil 2.17. Makler Sayım Kamarası İçerisinde Hareketli ve Hareketsiz Sperm Hücrelerinin Konumu.....	45
Şekil 2.18. Makler Sayım Kamarasının Mikroskop Altındaki Görüntüsünün Şematik Çizimi.....	46
Şekil 2.19. Yayma Preparat Hazırlama Yöntemi.....	51
Şekil 2.20. Sperm Hücrelerinin Boyalı Görüntüsü.....	52
Şekil 2.21. Normal Sperm Hücresindeki Baş ve Orta Parçanın Görünümü.....	52
Şekil 2.22. Farklı Sperm Morfolojileri.....	53
Şekil 3.1. Makler Sayım Kamarası ile Sperm Hücrelerinin Görünümü.....	59
Şekil 3.2. Islak Preparat ile Hazırlanan Sperm Hücrelerinin Görünümü.....	61
Şekil 3.3. Eozin-Y Nigrosin Boyaması ile Sperm Hücrelerinin Görünümü.....	62
Şekil 4.1. a Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yönteminde Belirlenen Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Saçılım Grafiği.....	69

Şekil 4.2. a Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Histogram Grafiği.....	70
Şekil 4.3. a Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Karşılaştırılmasına Dair Fark Grafiği	71
Şekil 4.4. a Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ortalama Değerler Grafiği.....	71
Şekil 4.5. b Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yönteminde Belirlenen Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Saçılım Grafiği	73
Şekil 4.6. b Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Histogram Grafiği	74
Şekil 4.7. b Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Karşılaştırılmasına Dair Fark Grafiği.....	75
Şekil 4.8. b Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ortalama Değerler Grafiği	75
Şekil 4.9. c Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yönteminde Belirlenen Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Saçılım Grafiği.....	77
Şekil 4.10. c Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Histogram Grafiği.....	78
Şekil 4.11. c Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Karşılaştırılmasına Dair Fark Grafiği.....	79
Şekil 4.12. c Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ortalama Değerler Grafiği.....	79
Şekil 4.13. d Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yönteminde Belirlenen Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Saçılım Grafiği.....	81
Şekil 4.14. d Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve	

Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Histogram Grafiği.....	82
Şekil 4.15. d Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Karşılaştırılmasına Dair Fark Grafiği.....	83
Şekil 4.16. d Tipi Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ortalama Değerler Grafiği.....	83
Şekil 4.17. Hareketli Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yönteminde Belirlenen Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Saçılım Grafiği.....	85
Şekil 4.18. Hareketli Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Ortalamaya Karşı Fark Değerlerinin Histogram Grafiği.....	86
Şekil 4.19. Hareketli Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ölçümlerin Karşılaştırılmasına Dair fark grafiği.....	87
Şekil 4.20. Hareketli Sperm Yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemine Ait Ortalama Değerler Grafiği.....	87

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. Ardışık Olarak WHO Klavuzlarında Yayınlanmış Semen Özellikleri için Alt Sınır Değerleri.....	32
Tablo 2.2. Semen Analizi Testinin Değerlendirilmesinde İzlenecek Yollar ve Süreleri.....	33
Tablo 2.3. WHO 2010 Laboratuvar El Kitabında İki Sayım Arasındaki Kullanılabilir Yüzde Farklılıkları.....	43
Tablo 2.4. WHO 2010'da Yer Alan, Normal Semen Örneğinin Özellikleri ve Alt Sınır Değerleri.....	54
Tablo 2.5. WHO 2010'da Yer Alan Semen Analizi Terminolojisi.....	55
Tablo 3.1. WHO 2010'da Belirlenen Toplam Sperm Sayısı için İki Tekrar Arasındaki Kullanılabilir Farklılıklar.....	63
Tablo 4.1. Hastaların Bazı Semen Parametreleri.....	66
Tablo 4.2. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat ile Belirlenen Sperm Hareketliliği.....	67
Tablo 4.3. a Tipi Sperm Hücresi için İki Yöntem Arasındaki Tanımlayıcı Değerler.....	69
Tablo 4.4. b Tipi Sperm Hücresi için İki Yöntem Arasındaki Tanımlayıcı Değerler.....	73
Tablo 4.5. c Tipi Sperm Hücresi için İki Yöntem Arasındaki Tanımlayıcı Değerler.....	77
Tablo 4.6. d Tipi Sperm Hücresi için İki Yöntem Arasındaki Tanımlayıcı Değerler.....	81
Tablo 4.7. Hareketli Sperm Hücresi için İki Yöntem Arasındaki Tanımlayıcı Değerler.....	85

1. GİRİŞ

Cinsel olarak aktif çiftlerin en az bir yıl boyunca düzenli ilişki içerisinde olmalarına rağmen gebeliğin oluşmaması durumu Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından infertilite olarak tanımlanmaktadır. Normal bir çiftin bir ay içerisinde gebe kalma şansı % 20-25, 6 ay içerisinde % 60, bir yıl içerisinde ise % 84'tür. Çiftlerin yaklaşık % 15'inde infertilite sorunu vardır. İnfertilite olgularının yaklaşık % 50'si kadına ait faktörlerden, % 30' u erkeğe ait faktörlerden oluşmaktadır. İnfertilitenin % 20'si hem kadın hem de erkek faktörüne dayanmaktadır (Kamel, 2010).

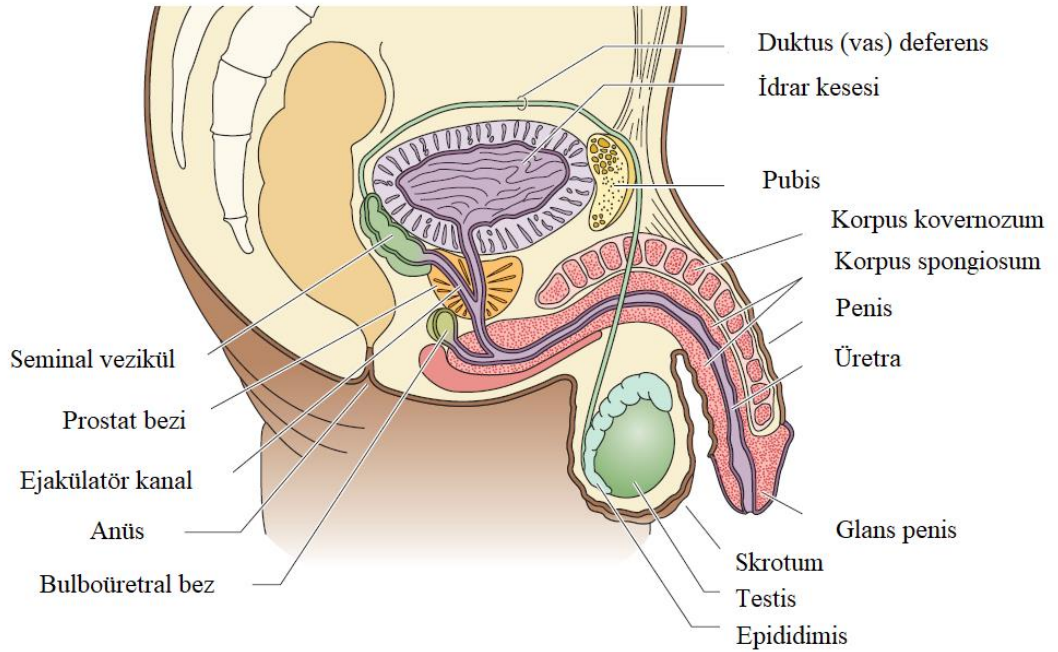
Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde semen analizi (spermiyogram) uzun yıllardan beri kullanılan en önemli tanı yöntemidir. DSÖ'nün bu amaçla yayınladığı 'WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 2010' günümüzde tüm dünyada yaygın ve kabul gören önemli bir kaynaktır. Ancak, bu kitap içerisinde dahi semene ait parametrelerin incelenmesinde birden fazla yöntem önerilmektedir (Cooper, 2010). Yine, Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği (ESHRE) gibi çeşitli kuruluşların yayınları, DSÖ el kitapçığının son baskısındaki bazı yönetsel önerilerin mevcut literatür bilgisine tamamen aykırı olduğunu iddia etmektedir (Barratt ve ark., 2011). Bu kaynaklar arasında fikir ayrılığının en fazla yaşandığı parametrelerden birisi sperm hareketliliğidir. DSÖ motilite değerlendirilmesinde, zayıf eğitilmiş teknisyenlerin yavaş ve hızlı hareket eden spermelerin ayrımını tekrarlanabilir ve güvenilir bir biçimde değerlendiremeyeceğini düşünmektedir ve bu yüzden yavaş ve hızlı hareket eden spermelerin aynı kategoride hareketli sperm olarak değerlendirilmesi gerektiği görüşündedir. Ancak ESHRE, teknisyenlerin bu ayrımı yapmalarının gerekliliğini savunmaktadır. ESHRE, önceki yıllarda yapılan çalışmalar ışığında, bu konuda yeterli eğitimler verilmesi için açılan eğitim kurslarıyla da bu görüşünü destekleyerek, motilite için yavaş ve hızlı hareketin ayrı ayrı değerlendirilmesi gerektiğini belirtmektedir (Barratt ve ark., 2011).

Semen analizinde motilite belirlemek için birçok sayım odası bulunmaktadır (Imade ve ark., 1993; Bailey ve ark., 2007; Robinson ve ark., 2018). Günümüzde en yaygın kullanılan Makler Sayım Kamarasıdır (Björndahl, 2016). Bazı çalışmalar Makler Sayım Kamarası ile sayım yapılmasının doğru sonuçlar vermediğini gösterse de birçok çalışma da yeterli olduğu görüşündedir (Makler, 1980; Ludwig ve Frick, 1987; Fisch ve ark., 1996; Jequier, 2000; Bailey ve ark., 2007). Günümüzde de kullanım kolaylığı sebebiyle klinik uygulamalarda tercih edilmektedir (Björndahl, 2016). DSÖ sperm sayımında hareketlilik belirlemek için Islak Preparat yönteminin tercih edilmesi gerektiği görüşündedir (WHO, 2010). Makler Sayım Kamarası diğer yöntemlere göre daha fazla sperm hücresi sayma eğilimindedir (Bailey ve ark., 2007). Bu durumda değerlendirilecek olan hareketlilik verilerinin yanlış yönlendirmesi sonucu hastanın tedavi sürecini etkileyecektir. Sayım yöntemlerinin karşılaştırılması için detaylı bir analiz yöntemi ile her bireyin verileri değerlendirilmelidir. Bland-Altman analizi ile uygulanan yöntemlerin birbirinin yerine kullanılabilirliğini öğrenmek için, iki yöntem arasındaki farkların yeterince küçük ve uygun olup olmadığına karar verebiliriz. Bu yüzden karşılaştırılmalı verilerin analizini, grafik ve basit hesaplamalarla, iki farklı yöntem arasındaki karşılaştırmalar için kullanılabilir (Bland ve Altman, 1986).

Bu doğrultuda bu tez çalışmasında, Androloji Laboratuvarına başvuran ve gönüllü olan hastaların semen numunelerinden DSÖ'nün ve ESHRE'nin kaynak ve kılavuzlarında önerdiği basamaklara uyararak, sperm hareketliliği iki farklı yöntem olan Makler Sayım Kamarası ve lam lamel arası Islak Preparat Yöntemi ile belirlenecek ve Bland-Altman analizi kullanılarak birbiriyle karşılaştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Erkek üreme sistemi; testisler, genital kanallar, skrotum, penis ve aksesuar bezleri (seminal veziküller, prostat bezi ve bulbolürratral bezler) içerir (Şekil 2.1). Testisler, sperm hücrelerini (erkek gamet hücrelerini) oluşturur ve testosteron (erkek seks hormonu) sentezini, depolanmasını ve salınımını sağlar. Aksesuar bezleri, sperm hücrelerini besler ve sperm hücrelerinin iletimi için sıvı bir ortam oluşturur. Penis, hem spermin dışı üreme sistemine taşınmasını hem de idrarın vücut dışına atılımını sağlar. (Gartner ve Hiatt, 2011).



Şekil 2.1. Erkek üreme sistemi şematik çizimi (Gartner ve Hiatt, 2007).

2.1. Testis Gelişimi

Erkek ve dişi gametler embriyo dışı kökene sahiptir. Primordiyal germ hücreleri ilk olarak 3 haftalık embriyoda vitellüs kesesi duvarında endodermal hücreler arasında allantoyise yakın yerleşimli olarak ortaya çıkar. Gelişimin 4. haftasında bu hücreler sonbağırsağın arka mezenteri boyunca ameboid hareketlerle ilerlemektedir. Embriyonik gelişimin 5. haftasında gelişen primitif gonadlara ulaşırlar. Mezodermal epitel (kölom epiteli) ve altındaki mezenşimin yoğunlaşması mezonefrozun medialinde genital sırtlar biçimlenir ve 6. haftada germ hücreleri genital sırtlara yerleşir. Genital sırtlara ulaşamayan primitif germ hücrelerinde gonadlar gelişmez (Sadler, 2011).

Fetal gelişimin 7. haftasına kadar, erkek ve dişiye ait gonadlar birbirlerinden ayırt edici morfolojik özelliklere sahip olmadıkları için genel tek bir gonad tipi vardır; bu döneme gonadal değişimin farklanmamış dönemi, bu dönemdeki gonadlara da farklanmamış gonadlar denilmektedir. Bundan sonra erkekte korteks geriler ve medulla testisi oluşturur (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006; Sadler, 2011).

Gonadın testise veya yumurtalıklara embriyonik olarak farklılaşması, Y kromozomunun varlığı veya yokluğuna bağlıdır (Rogers, 2011). Cinsel farklılaşma yani Y kromozomu taşıyan embriyoların oluşumu gebeliğin 7. haftasında gerçekleşmektedir (Varghese ve ark., 2010).

Primordiyal germ hücreleri XY kromozomuna sahip olduğu takdirde genetik olarak birey erkektir. Y kromozomunun kısa kolunda yerleşmiş SRY (cinsiyet belirleyici bölge) üzerinde bulunan gen ile kodlanan testis belirleyici faktör (TDF) olarak bilinen bir gen ürünü ile kontrol edilir. Y kromozomunda bulunan SRY geninin transkripsiyonu, TDF proteininin sentezine yol açar. TDF testiküler farklılaşmayı sağlarken gonadal kordonlar, seminiferöz kordonlara (seminiferöz tübül primordiyumlar) farklanmaktadırlar (Polat, 2009; Varghese ve ark., 2010).

SRY bir transkripsiyon faktörüdür ve testis diferansiasyonunu SOX9 otozomal geni ile başlatır. SOX9 otozomal geni aynı zamanda MIS (müllerian inhibe

edici madde) geninin promoter bölgesine bağlanarak bu genin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Sadler, 2011).

TDF, gonadal kordonları uyararak primitif cinsiyet kordonlarının testisi oluşturmasına neden olur. Testis kordonları gonadların hilusuna doğru dallanarak küçük hücreler şeklinde ağ oluşturarak dağılırlar, bu yapılar daha sonra rete testis tübüllerini oluştururlar. Gelişimin ilerleyen evrelerinde testis kordonları ile yüzey epiteli arasındaki ilişki tunika albuginea denilen yoğun fibröz bağ dokusu katmanının etkisi ile birbirlerinden ayrılmaktadır (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006; Sadler, 2011).

4. ayda fetal testis, tubuli rekti (düz tübüller) aracılığı ile rete testise bağlanmış seminifer kordonlardan oluşmaktadır. Bu durumda seminifer kordonlar, testisin yüzey epitelinden gelişen, germ hücrelerine destek, koruma ve beslenmede yardımcı olan hücreleri olan Sertoli hücrelerinden ve primitif germ hücrelerinden köken alan spermatogonyumlardan oluşmaktadır. Seminifer kordonların arasında, mezonefrik mezenşimden köken alan interstisyel (Leydig) hücreler bulunmaktadır; bu hücreler tarafından kordonlar birbirlerinden ayrılarak Leydig hücreleri gelişmeye başlamaktadır (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006). Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron ve onun türevi olan dihidrotestosteron gebeliğin ilk trimesterinde fetusta erkek cinsel organ oluşumunda anahtar role sahiptir (Rogers, 2011).

Fetal hipofiz Lüteinize edici Hormon (LH) salgılamadığı için, plasental human koryonik gonadotropin (hCG) tarafından uyarılan fetal Leydig hücreleri gebeliğin 8. haftasında mezonefrik kanalın gelişimine neden olan testosteronun üretimine başlamaktadır (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006; Varghese ve ark., 2010; Rogers, 2011).

Testis kordonları puberteye kadar birbirlerine bağlı halde kalırken pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşmektedir. Kısa süre içerisinde rete testis tübülleri ile birleşerek duktuli eferenteslere girerler. Rete testis ile duktus efferentes Wolff kanalları ile birbirlerine bağlanır (Sadler, 2011). Androjen yokluğu söz konusu olduğunda Wolff kanalı geriler. Wolff kanalının baş kısmı epididimisi, vaz deferensi

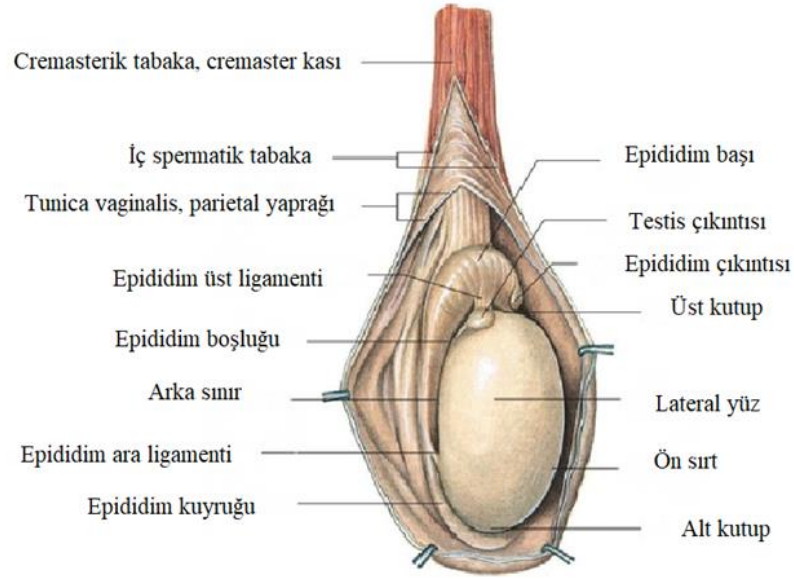
ve ejakülatör kanalını, aynı zamanda vaz deferensin bir çıkıntısı da seminal vezikülleri oluşturmaktadır (Kierszenbaum ve Tres, 2015).

Fetal Sertoli hücreleri, parametonefrik kanalın gerilemesine neden olan MIS salgılamaktadır. Bu olayın gerçekleşmesi erkek iç genital organlarının oluşumuna yol açmaktadır; MIS yokluğunda ise Müller kanalları varlığını sürdürür ve bu sayede dışı iç genital organları oluşur (Varghese ve ark., 2010; Kierszenbaum ve Tres, 2015).

2.2. Testis Anatomisi

Erkeklerin başlıca üreme organları olan testisler, sperm ve testosteron üretiminden sorumlu olan ovoid ve endokrin organlardır (Solakoğlu ve Aytekin, 2009). Testisler, dartos kası ve spermatik kordları içeren skrotal dokularla skrotuma asılıdır. Bu şekildeki yerleşim yerleri vücut ısısından 2°C–3°C düşük ısıda olmalarını sağlamaktadır (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006; Healy, 2008). Testisler; testiküler boyutları ortalama 4-5 cm, genişliği 2.5 cm, ön-arka çapı 3 cm, hacmi 15-25 cm³ (Caroppo, 2011) olan ve ağırlığı 10-14 gr arasında değişen üreme organlarıdır (Batislam ve Başar, 2004).

Sol testis sağ testisten 1 cm daha aşağıdadır ve her testis skrotumda eğik olarak bulunur; yukarıdan aşağıya doğru anterolateral-posteromedial bir düzlemde yerleşik durumdadırlar (Batislam ve Başar, 2004; Kalthur, 2017). Testis zar tabakaları dıştan içeriye doğru; tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskülozadan oluşur. Tunika vaginalis visseral ve pariyetal yapraklardan oluşur. Bu yapraklar arasında az miktarda seröz sıvı içeren bir boşluk bulunmaktadır (Batislam ve Başar, 2004; Healy, 2008) (Şekil 2.2).



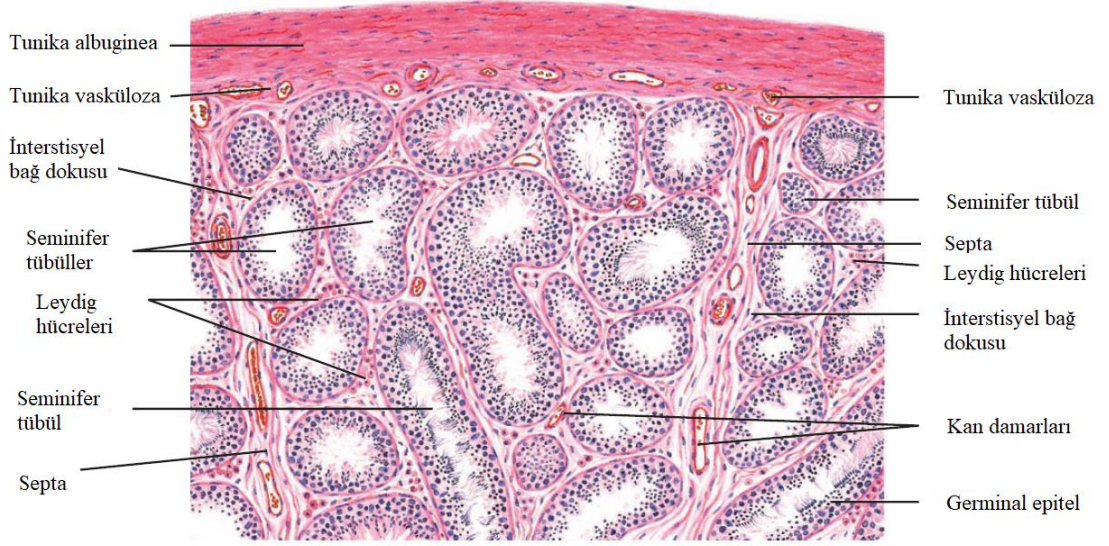
Şekil 2.2. Testis anatomisi (Healy, 2008).

2.3. Testis Histolojisi ve Genel Yapısı

Testis Histolojisi

Testisler erkeklerde bir çift organ olarak skrotum içerisinde bulunmaktadır (Junqueira ve Carneiro, 2003). Testis tunika albuginea adı verilen gergin, yoğun bir bağ dokusu ve kalın bir kapsül (kılıf) ile sarılıdır. (Rogers, 2011).

Kapsül bağ dokusu testisin arka yüzünde kalınlaşır ve testis içerisine doğru uzanarak mediastinum testisi oluşturur. Mediastinum testisler, tunika albuginea'dan köken alan ve septum adı verilen ince bağ dokusu yapısındaki fibröz uzantılar sayesinde, lobül adı verilen yaklaşık 250 adet tamamlanmamış bölmeye ayırır ve her lobülde 1-4 adet gevşek bağ dokusu ile sarılı seminifer tübül bulunur (Junqueira ve Carneiro, 2003; Aytekin ve Solakoğlu, 2004; Rogers, 2011; Demir, 2013). Bu bağ dokusu içerisinde; bol miktarda kan ve lenf damarı, Leydig hücreleri ve sinirler bulunur (Şekil 2.3) (Varghese ve ark., 2010).



Şekil 2.3. Testis kesiti (Eroschenko, 2008).

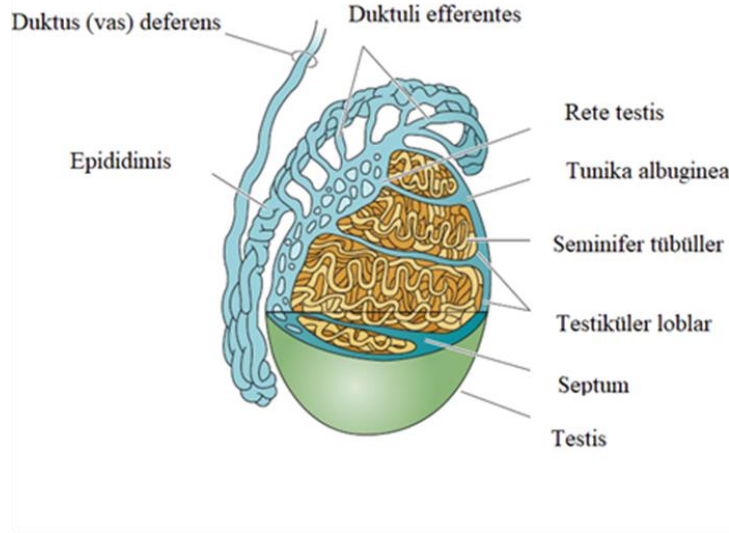
Testis Genel Yapısı

Testislerin %90'ı seminifer tübüller (Sertoli ve germ hücreleri), %10'u interstisyel hücrelerdir (Leydig ve bağ dokusu hücreleri) (Varghese ve ark., 2010).

Testisin en önemli parankimal bileşeni olan, kıvrımlı tüplere sahip seminifer tübüller; germinal veya seminiferöz epitel ile örtülüdür. Testiste yaklaşık olarak 250-1000 adet seminifer tübül bulunur ve bunlar çok katlı bir epitele sahiptir (Feedback, 1987).

Leydig hücreleri mezonefrik kanaldaki reseptörlere bağlanarak testosteron üretir ve renal korpus dejenere olur. Mezonefroz tübüllerinin rete testis ile bağlanır ve bu durum duktuli efferentes oluşumuyla sonlanmaktadır. Bu olay tübüller mezonefrik kanal ile gerçekleşir ve epididimis oluşur (Varghese ve ark., 2010).

Androjen üretimi çoğunlukla LH' nin etkisi altındaki Leydig hücreleri tarafından testislerde oluşur. Androjenler; ya doğrudan kan dolaşımına girer ya da Sertoli hücrelerine yayılırlar (Heffner ve Schust, 2014a).



Şekil 2.4. Testis genel yapısı (Gartner ve Hiatt, 2011).

Tam spermatogenezi gerçekleştiren bozulmamış testis yaklaşık 25×10^6 Sertoli hücresine sahiptir (Raleigh ve ark. 2004). Seminifer tübüllerde tek somatik hücre olan Sertoli hücrelerinin başlıca görevleri şunlardır (Andres ve ark., 2017);

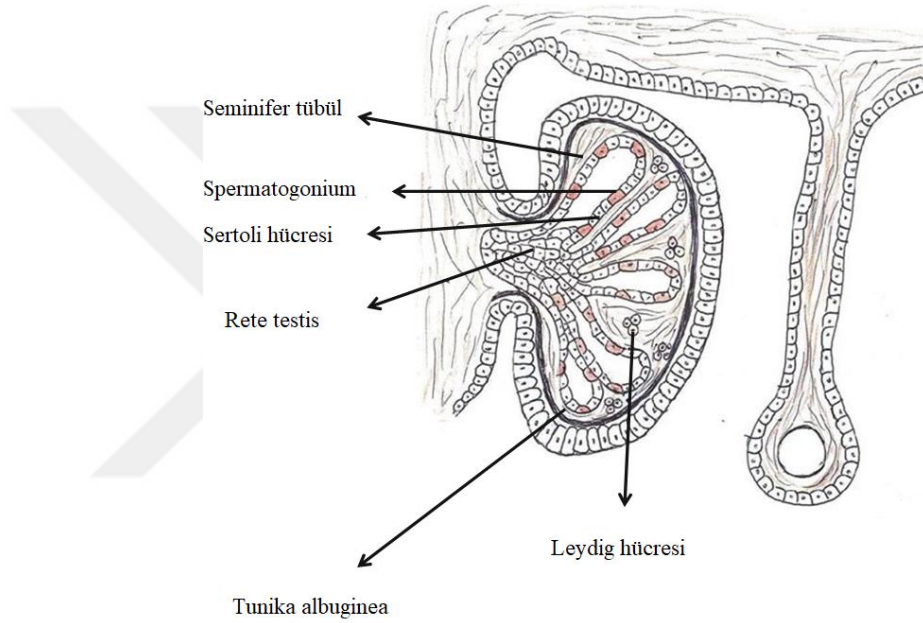
- Kök hücrelerin gelişmesini ve olgunlaşmasını sağlamak.
- Kan-testis bariyerini oluşturması sebebiyle hücreler için en elverişli ortamı sağlamak.
- Testiküler sıvı ve elektrolitlerin korunmasını sağlamak.
- Testosteron için androjen bağlayıcı protein (ABP) üretimi.
- FSH, LH ve testosteron reseptörlerini taşımak.

Testislerin iki önemli işlevi bulunmaktadır: Bunlardan ilki seminifer tübüllerin içinde oluşan *spermatogenez*, ikincisi ise tübüller arasındaki interstisyel doku içerisinde bulunmakta olan Leydig hücrelerinin erkek hormonu sekresyonu; yani androjen üretimidir (Güvel, 2013; Heffner ve Schust, 2014b).

Testis, ekzokrin ve endokrin bez fonksiyonu olmak üzere iki işlevi de gerçekleştirme özelliği olan karışık bir bezdir. Seminifer tübüllerde proliferasyon ve spermatogonia olgunlaşmasıyla başlıca olgun sperm hücrelerinin oluşumu ekzokrin, leydig hücreleri tarafından sentez edilen iç salgı maddesi oluşumu ise endokrin bez ile işlevi gerçekleşir (Feedback, 1987).

2.3.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller, 30-70 cm uzunluğunda, ortalama 150-250 µm çapa sahip tübüler yapılardır. Seminifer tübüller, sperm hücrelerini üretirler, spermatojenik seri hücrelerini ve primidal şekilli bazal lamina ile ilişkili Sertoli (destek) hücrelerini içerirler. Testis kütlelerinin yaklaşık olarak % 90'ını seminifer tübüller oluşturmaktadır (Şekil 2.5) (Feedback, 1987; Solakoğlu ve Aytakin, 2009; Rogers, 2011).



Şekil 2.5. Seminifer túbül, Sertoli ve Leydig hücreleri (Kalthur, 2017).

Seminifer tübüller, dışta sınırlayıcı bir doku olan fibröz tunika propria (lamina propria) ile sarılıdır. Bu doku sayesinde seminifer tübüller intertisyel dokudan (tübüller arası) ayrılır. İntertisyel dokunun sahip olduğu damar ve sinirler tunika propriayı aşamadığı için seminifer tübüller damarsız (avasküler) yapıdadır (Skinner, 2005; Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006).

Seminifer túbül enine kesiti, çok katlı kübik epitel görünümündedir. Tunika propria hücresiz ve hücreli katlar içerir. Hüresiz kat, fibrillerden ve çok sayıda glikoproteinlerden oluşan matriks taşır. Hücreli katlar, fibroblast benzeri yassı düz kas özellikleri gösteren myoid adı verilen hücreler ile kollajen lifler bulunur (Aytakin

ve Solakoğlu, 2004; Kierszenbaum ve Tres, 2015). Myoid hücreler, düzenli kasılma ile tübüller içinde pasif hareketli spermatogonial hücrelerin lümene doğru ilerlemesini kolaylaştırır (Parks ve ark., 2003; Solakoğlu ve Aytekin, 2009).

2.3.2. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri, germinal epitelyumda bulunan piramidal hücrelerdir ve spermatogenez sürecinin başlamasında önemli rolleri bulunmaktadır (Bruning ve ark., 1993). Sertoli hücreleri spermatositler arasında bulunur ve bazal laminaya dayalıdır. Sertoli hücrelerinin tepe kısımları seminifer tübül lümenine kadar boru halinde ve birçok spermatozoanın çevresinde geniş sitoplazmik parmaklar şeklinde uzanmaktadır. Geniş anlamda germinal epitelin destekleyici yapısı olarak düşünülmektedir (Feedback, 1987; Heffner ve Schust, 2014b; Weinbauer ve ark., 2010).

Sertoli hücrelerinin sitoplazması pürüzsüzdür aynı zamanda çok sayıda düz endoplazmik retikulum, mitokondri, lizozom; belirgin golgi kompleksi, girintili çekirdek ve belirgin çekirdekçiğe sahiptir (Weinbauer ve ark., 2010).

Sertoli hücreleri ABP üretirler. Testiste devam eden spermatogenezis tek başına testosteronla kalıcı olarak sürdürülebilmesine rağmen spermatogenezin başlatılması için folikül uyarıcı hormon (FSH) gereklidir (Heffner ve Schust, 2014c).

Erkeklerde FSH'nin seminifer epitel içerisindeki hedef alanı Sertoli hücreleridir. FSH, seminifer tübüllerin bazal membranı boyunca yayılır ve Sertoli hücrelerindeki spesifik plazma membran reseptörlerine bağlanırlar. FSH reseptörlerinin aktivasyonu, hem intrasellüler androjen reseptörlerinin hem de androjen bağlayıcı proteinin (ABP) senteziyle sonuçlanmaktadır (Noort ve ark., 1992; Heffner ve Schust, 2014c).

ABP, Leydig hücreleri tarafından üretilen ve interstisyel üretim alanlarından yayılarak geçen androjenleri seminifer tüp içerisine bağlamaktadır. ABP bu androjenleri germ hücrelerine aktarmaktadır. FSH spermatogenez başlattıktan sonra,

yeterli ve kesintisiz bir testosteron kaynağı olduğu sürece bu süreç devam etmektedir (Heffner ve Schust, 2014c).

Sertoli hücre ürünleri arasında; ekstrasellüler matriks için salgılanan laminin, tip IV ve tip I kollajen; androjen bağımlı proteinler; transferrin, nektin, gelsolin, vinculin ve steroidler; testosteron ve östradiol sayılabilmektedir (Weinbauer ve ark., 2010).

Testis kapilleri büyük moleküllerin geçişine olanak sağlayan pencere yapıdadır. Spermatogonyumların kan içerisindeki maddelere ulaşımı bu sayede kolaydır. Ancak sıralı Sertoli hücreleri, hücrenin bazal kısmında engelleyici etkide sıkı bağlantılar kurarak kan-testis bariyerini oluştururlar. Kan-testis bariyeri seminifer tübüllerin iç kısımları ile kan arasında bulunur. Seminifer tübül epiteli, kan-testis bariyeri sayesinde seminifer tübül lümenine doğru uzanan adluminal kompartıman oluşacak şekilde ikiye bölünür. Seminifer tübül epitelinde; bazal bölgede genç spermatositler (leptoten, zigoten) ve spermatogonyumlar, adluminal bölgede olgun spermatositler (pakiten) ve spermatozoalar bulunur (Weinbauer ve ark., 2010).

Kan-testis bariyeri oluşumunun önemli iki sonucu bağışıklık sistemi ve sperm gelişimidir. Bu durum bazı ilaç kullanımlarının önlenmesi gereken etkilerinin germ hücrelerine ulaşmasını engellemektedir. Mayoz sonrası germ hücreleri haploid haline gelirken bariyerin etkisiyle hücrelerin fiziksel olarak izolasyonu sağlanmaktadır. Bu sayede vücut immün sisteminin hücreleri yıkma durumu engellenmektedir (Weinbauer ve ark., 2010).

2.3.3. Leydig Hücreleri

1850 yılında Franz Leydig tarafından ilk olarak tanımlanmıştır (Prince, 2007). Testislerde, interstisyel bölme, toplam testis hacminin % 12-15'ini kapsar ve bunların % 10-20'si Leydig hücreleri tarafından oluşturulur, kalan kısımlar ise bağışıklık hücreleri, kan ve lenf damarları, sinirler, fibroblastlar ve gevşek bağ dokusunu içermektedir. (Junqueira, 2003; Rogers, 2011).

Leydig hücrelerinin gelişimsel, işlevsel ve morfolojik olarak farklı tipleri mevcuttur (Hardy ve Ge, 2007). Bunlar;

- Koruyucu olarak görev yapan hücreler,
- Kök hücre olarak progenitör hücreler,
- Fetusta terminal olarak farklılaşmış hücre olan fetal hücreler,
- Yetişkin hücreler.

Fetal Leydig hücreleri, doğumda yeni doğan Leydig hücreleri halinde iken sonrasında dejenere olarak olgunlaşmamış Leydig hücreleri haline gelirler (Prince, 2007), bu hücreler testosteron üretiminden sorumludur (Varghese ve ark., 2010).

Yetişkin Leydig hücreleri steroid üreten hücreler oldukları için düz endoplazmik retikuluma ve tübüler krista içeren mitokondri açısından zengin bir yapısal özelliğe sahiptirler (Weinbauer ve ark., 2010).

Leydig hücrelerinin normal fizyolojik şartlar altında en önemli görevi erkek cinsel hormonu olan testosteronu üretmek ve salgılamaktır (Weinbauer ve ark., 2010; Berman ve ark., 2012).

Testosteron, %90-95 oranında testislerde Leydig hücrelerinin mitokondrilerinde kolesterolün enzimatik reaksiyona girmesi sonucunda günde ortalama 2.1–11 mg arası sentez edilmektedir. Normal plazma düzeyi 300-1000 ng/dl arasında bulunmaktadır. Testosteron lipofilik özellikte bir molekül olduğundan leydig hücrelerinden kana difüzyon yoluyla geçer. Kandaki testosteronun %98'i, seks hormonu bağlayıcı transport proteinleri olan globülin ve albümine bağlı bulunurken %2'si serbest halde bulunmaktadır (Berman ve ark., 2012; Görür ve Çekiç, 2014).

Leydig hücreleri doza bağımlı bir şekilde testosteron sentezleyerek ve salarak LH'ye tepki verirler. Leydig hücrelerinde LH reseptörleri hariç prolaktin ve inhibitör reseptörleri bulunur; prolaktin ve inhibitör, testosteron üretiminde LH'nin uyarıcı aktivitesini kolaylaştırmaktadır ve bu sayede testosteron, erkekte LH sekresyonunun başlıca düzenleyicisi olarak bilinmektedir (Yan Cheng ve Mruk, 2012; Heffner ve Schust, 2014c).

2.4. Erkek Genital Boşaltım Yolları

Seminifer tübül enine kesitinde gözlenen germinal (seminifer) epitel içerisindeki spermatogenik hücrelerin gerçekleştirdiği bir takım süreçler sonucu üretilen sperm hücrelerinin penisten dışarıya atılması özel kanallardan geçerek gerçekleşmektedir (Junqueira, 2003; Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

Bu kanallar;

- İntratestiküler kanallar; tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes
- Ekstratestiküler kanallar; duktus epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatoryus
- Üretra'dır.

2.4.1. İntratestiküler Kanallar

Tubuli Rekti

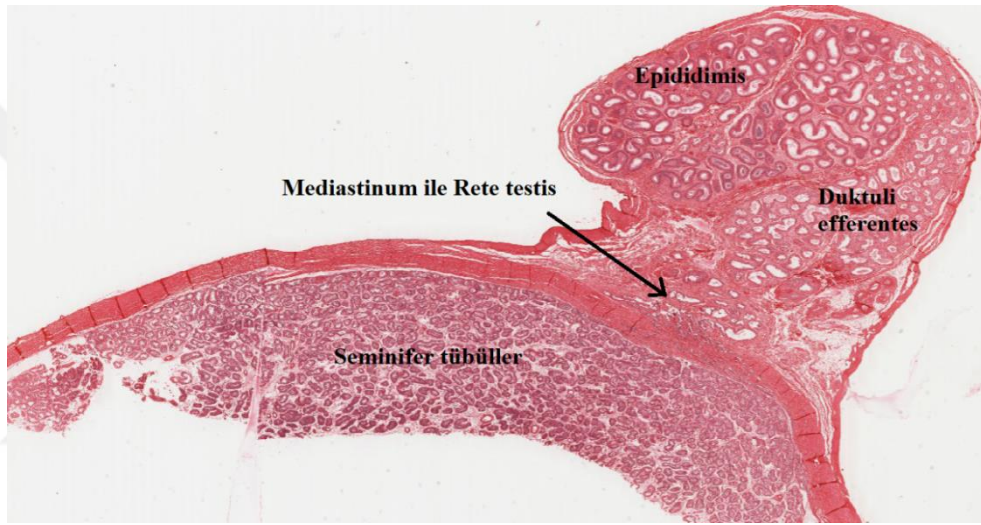
Seminifer tübüller mediastinum'a doğru geldiğinde; 1 mm uzunluğunda, 20-25 mm çapında olan ve kıvrımlı yapıların düzleştiği borucuklar meydana gelmektedir. Burası tubuli rekti olarak bilinmektedir, aynı zamanda yapılarından dolayı düz tübüller olarak da adlandırılmaktadır. Tubuli rekti epitelinde Sertoli hücrelerinden farklılaşmış prizmatik hücreler gözlenirken, epitelin altında belirginleşmiş bir bazal lamina mevcuttur. Bu tübül kanallarının görevi seminifer tübülleri rete testis kanalına bağlamaktadır (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

Rete Testis

Rete testis, mediastinum testiste gömülü olarak bulunan epitel ile kaplı kanalların birbirleri ile bağlanmasıyla oluşmaktadır ve seminal sıvının taşınmasını sağlamaktadır (Setchell ve ark., 1969; Junqueira, 2003).

Seminifer túbüllerin lümeninden gelen sıvı ile ortaya çıktığı düşünölen rete testis sıvısı değişime uğrayarak, mediastinum testis üzerinden bu sıvıyı epididimise taşıma ile görevlidir (Şekil 2.6) (Setchell ve ark., 1969; O'Rourke ve Allen, 2017a).

Rete testis sıvısında yüksek miktarda serum proteinleri bulunmaktadır (Setchell ve ark., 1969). Rete testis sıvısının içerisinde bulunan proteinlerin mevcut bulunan proteinlerden spesifik olarak farklı olduğu gözlenmiştir (Johnson ve Setchell, 1968) ve bu nedenle seminifer túbüllerden gelen sıvının tam bir temsili sayılamamaktadır (Setchell, 1974).



Şekil 2.6. Testis kesiti (Michigan Histology and Virtual Microscopy Learning Resources, 2019).

Duktuli efferentes

Konik yapılı, túbülleri tek katlı prizmatik epitel ve kübik hücrelerle döşeli kıvrımlı yapılar olan duktus efferentes kanalcıkları son kısımda duktus epididimise ile birleşmektedir (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

Duktuli efferentes ya da efferent kanalcıkları etrafında bulunan düz kas fibrillerinin kasılmaları sonucu sperm hücrelerinin duktus epididimise hareket etmesini sağlamaktadır, ayrıca testis sıvısı ile sperm hücrelerinin duktus epididimise taşınması için aracılık etmektedir (Aytekin ve Solakoğlu, 2004; Demir, 2013).

Duktuli efferentes kanalcıklarının lümene bakan yüzleri asidofiliktir ve silli (titrek tüy) yapıdadır; bu yapı sayesinde gerçekleştirdiği hareketlilik ile seminifer tübüllerden testislerdeki sıvı ve spermatozoonları duktus epididimise taşınmasına olanak sağlayacak bir akım yaratmaktadır (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

2.4.2. Ekstratestiküler Kanallar

Duktus epididimis

Uzun, kıvrımlı bir tüp şekline ve düz yüzeye sahip duktus epididimis, duktus efferentesin devamıdır. Tek kanaldan oluşan duktus epididimis, 0.4 mm çapında ve 4-6 m uzunluğundadır (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

Duktus epididimis epiteli, yassı tek sıra halinde bazal hücreler ile onların üstlerinde bulunan prizmatik hücrelerle kaplıdır. Bu kısımdaki prizmatik hücrelerin üstü hareketsiz stereosilya ile kaplıdır ve dıştan görünümü düzdür. Duktus epididimis, üretilen spermlerin toplandığı ve depolandığı yerdir (Aytekin ve Solakoğlu, 2004; Demir, 2013).

Duktus deferens

Epididimisin alt ucundan başlayarak testisin posterior yüzü boyunca yükselen, 2 mm çapında ve 45 cm uzunluğundaki bu kanal epididimisin kuyruğu ile devam etmektedir (Heffner ve Schust, 2014d). Dar lümene sahip olan ve stereosilyalı epitelden oluşan duktus deferensin duvarı kalın düz kas tabakasıyla çevrilidir. Yalancı çok katlı prizmatik epitele sahiptir. İçten dışa doğru; tunika mukoza, tunika muskularis, tunika adventisya olmak üzere duktus deferensin duvarı üç tabakadan oluşmaktadır (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

Duktus ejakulatoryus

2 cm uzunluğunda ve 0.5 mm çapındaki kanala sahip olan, prostat bezinin üst kısmından başlayarak, iki kanal şeklinde (sağ ve sol) birleşerek prostat içerisinden üretraya açılmaktadır. Değişken epitele sahip olan duktus ejakulatoryusta çok katlı değişken epitel ya da tek katlı prizmatik epitel hücrelerine rastlamak mümkündür (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

2.4.3. Üretra

Yaklaşık olarak 20 cm uzunluğundaki üretra üç kısımdan oluşmaktadır; pars prostatica, pars membranacea ve pars spongiosa. Epididimislerde toplanan spermatozoalar üretra içine taşınmaktadır ve genital boşaltım kanalı olan üretra aynı zamanda idrar boşaltma yolu olarak da işlev görmektedir (Solakoğlu ve Aytekin, 2009).

2.5. Yardımcı Üreme Bezleri

2.5.1. Seminal Vezikül

Üreter ve rektum arasında yer alan seminal veziküller; 5-15 cm uzunluğunda, 3-5 cm genişliğinde, glandüler yapılı ve kıvrımlı iki adet kanaldır. Her bir seminal vezikül duktus ejakulatoryusu oluşturmaktadır. Seminal vezikülün epitel yapısı tek katlı ya da yalancı çok katlı prizmatik epitel şeklinde farklılık göstermektedir. Bağ dokusu elastik lifler içermektedir ve düz kas lifleri ile çevrilidir (Riva ve Aumüller, 1992; Solakoğlu ve Aytekin, 2009). Seminal veziküller visköz ve sarımsı görünümde bir salgı üretmektedirler (Riva ve Aumüller, 1992). Bu salgı, sperm hücrelerinin hareketlerine etki edecek enerji kaynağı olan çeşitli proteinler, sitrat ve prostaglandinler içermektedir (Solakoğlu ve Aytekin, 2009). Seminal veziküller aracılığı ile gelen bu salgı ejakulat hacminin % 70'ini oluşturmaktadır (Batislam ve Başar, 2004).

2.5.2 Prostat Bezi

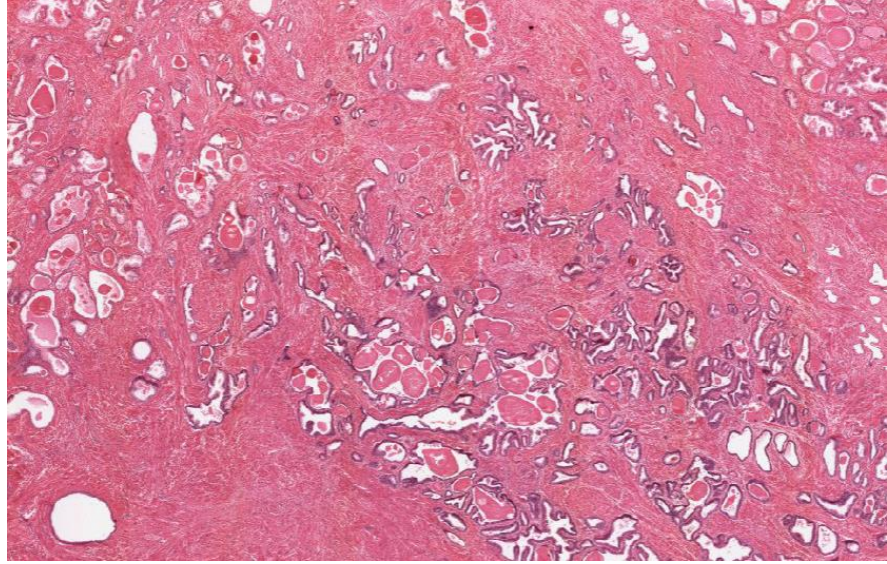
Prostat bezi; simfisis pubis ve rektum arasındaki pelvik boşluğunda eğik olarak, sırt yüzü idrar torbasına doğru ve ventral yüzü ürogenital diyaframa doğru eğimli bir şekilde bulunmaktadır (Aumüller, 1979a).

Ağırlığı 20 gr olan ve parankimi yaklaşık olarak 30-50 adet bileşik tübüloalveolar bezden oluşan prostat bezi; dıştan fibroelastik ve fibromuskuler yapıda bir kapsül tarafından sarılı bulunmaktadır. Prostat bezi yalancı çok katlı prizmatik ya da tek katlı epitel ile döşelidir (Aumüller, 1979b; Solakoğlu ve Aytekin, 2009). Prostat bezi seminal vezikül ile benzer karakterize özelliklere sahiptir (Şekil 2.7) (Mann ve Lutwak-Mann, 1981a).

Prostat bezinde yerleşim yerlerine göre üç bölge bulunmaktadır (Aumüller, 1979c). Bunlar;

- Yalancı çok katlı epitele sahip ve prostat bezinin yaklaşık % 25'ini oluşturan *merkezi bölge*,
- Prostat kanserine en fazla olanak sağlayan ve bezin % 70'ini kaplayan *periferik bölge*,
- Bezin kalan kısmını oluşturan *geçiş bölgesi*, şeklinde adlandırılmaktadır.

Prostat, alkali prostat sıvısı üretmektedir; bu salgı vajinanın pH'sını nötralize etmekte ve aynı zamanda sperm hareketliliğini arttırmaktadır (Aytekin ve Solakoğlu, 2004). Prostat, sperm atılımı gerçekleşeceği zaman harcanacak güç için prostat sıvısını biriktirmektedir (Solakoğlu ve Aytekin, 2009).



Şekil 2.7. Prostat bezi (Michigan Histology and Virtual Microscopy Learning Resources, 2019).

2.5.3. Bulboüretal Bez

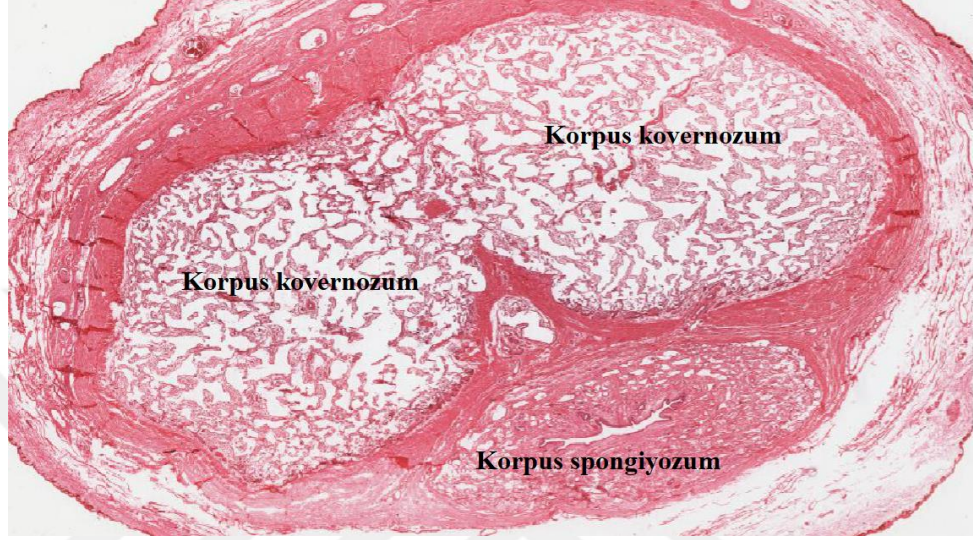
Bulboüretal bezler, Cowper bezleri olarak da bilinmektedir. Ortalama olarak 3-5 mm çapında ve glandüler yapıda bir çift olarak bulunmaktadırlar (Batislam ve Başar, 2004). Kas lifleri ile sarılı olan bulboüretal bezlerin epiteli tek katlı silindirik ve bezin salgısı mukusludur (Solakoğlu ve Aytakin, 2009).

2.6. Penis

Erkek seks organı olan penis, idrar boşaltımı ve spermin dışı üreme sistemine taşınmasını sağlayan organdır (O'Rourke ve Allen, 2017b).

Penisin üst kısmında yaklaşık 5 mm uzunluğunda bulunan vertikal yarı, sünnet derisinin parçası şeklinde bulunan frenulum adında ince bir yapı olan mukoza tabakası ekli halde bulunmaktadır. Prepusyum geri çekilebilir bir katlantı halindedir ve düz kas lifleri içermektedir (O'Rourke ve Allen, 2017b; Solakoğlu ve Aytakin, 2009).

Penis enine kesitinde üç silindirik erektil doku bulunmaktadır. Bunlardan çift halde ve üstte bulunanlar *korpus kovernozom*, altta ve üretrayı çevreleyen ise *üretra korpus kovernozom*, *korpus spongiyozum* olarak adlandırılmaktadır. Korpus spongiyozum genişleyerek *glans penisi* oluşturmaktadır (Aytekin ve Solakoğlu, 2004; Solakoğlu ve Aytekin, 2009) (Şekil 2.8).



Şekil 2.8. Penis enine kesiti (Michigan Histology and Virtual Microscopy Learning Resources, 2019).

2.7. Spermatogenez

Spermatogenez, saniyede yaklaşık 1000 sperm hücresi (spermatozoon) üretebilme kapasitesine sahip ve aktif olarak sürekli tekrarlanan bir süreç olmakla birlikte doğal olarak meydana gelen hücre bölünmesi ve germinal epitel tarafından yüksek oranda mitokondriyel oksijen tüketimini de içermektedir (Tekcan, 2009). Spermatogenez, testiste spermatozoonun üretilmesiyle sonuçlanan, erkek üreme hücresinin kademeli proliferasyon ve transformasyonunun karmaşık bir sürecidir (Mann ve Lutwak-Mann, 1981b).

Sertoli hücreleri tarafından desteklenen germ hücreleri puberte döneminde ortaya çıkmaktadır ve kök hücre spermatogonyumlarına gelişmektedir (Moore ve ark., 2013). Kök hücre spermatogonyumları olarak bilinen ve A tipi spermatogonyumlar olarak adlandırılan; açık ve soluk görünen ince kromatinli,

yuvarlak şekilli, yaklaşık 12 µm çapında, bazal lamina ile ilişkili küçük hücreler cinsel olgunluk çağında kendilerine benzer hücreler üretmek için mitoz bölünmeye girerler ve yeni hücreler oluştururlar. Bu hücreler hem soluk A tipi spermatogonyumlar hem de koyu A tipi spermatogonyumların oluşumundan sorumludurlar (Johnson ve ark., 2000; Solakoğlu ve Aytekin, 2009).

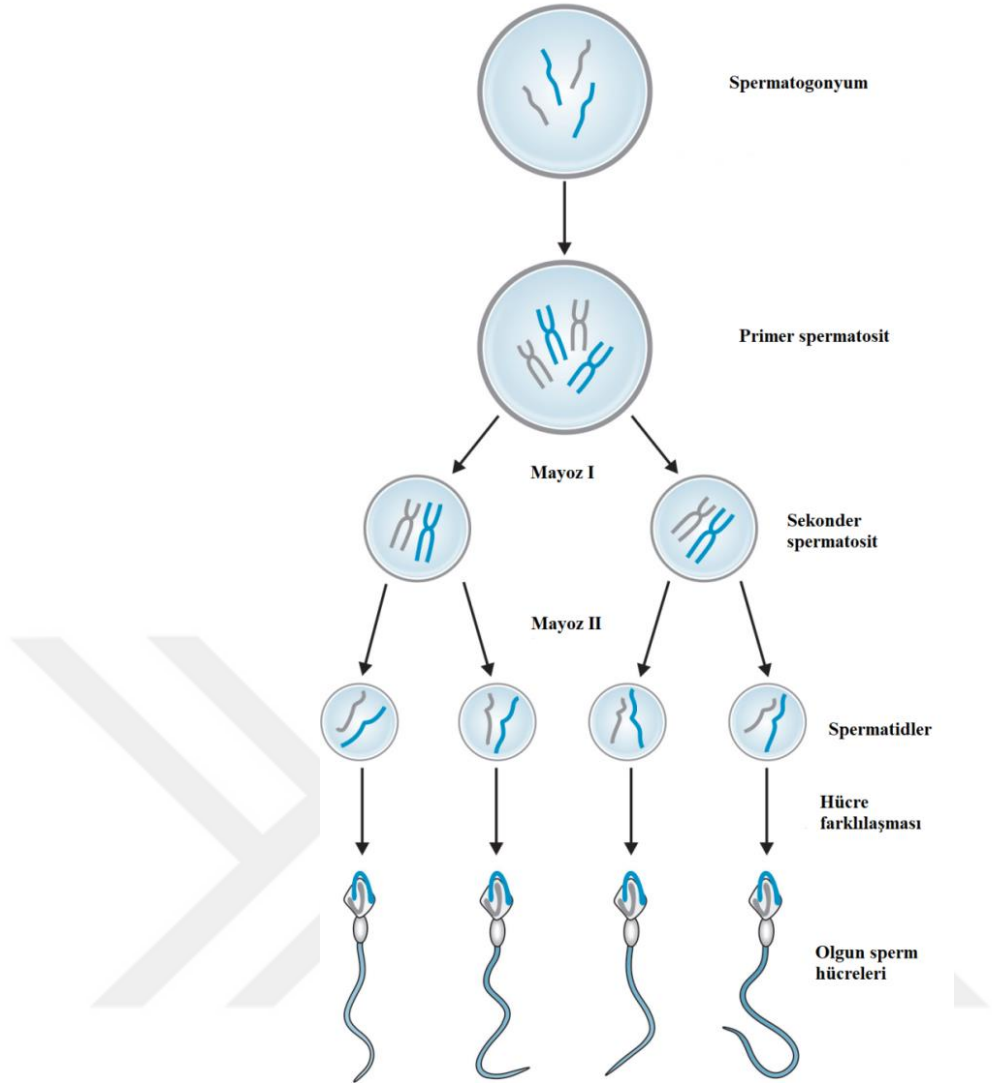
Soluk A tipi spermatogonyumlar mitoz bölünmeye devam eden kök hücre spermatogonyumları olarak çoğalırlar, gerektiğinde spermatogenez başlatmaktadırlar (Aytekin ve Solakoğlu, 2004). Koyu A tipi spermatogonyumlar ise B tipi spermatogonyumları oluşturmak üzere mitoz döngüsünde farklılaşmak üzere bölünmektedirler (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006).

Bazal lamina üzerine yerleşen B tipi spermatogonyumlar (Aytekin ve Solakoğlu, 2004);

- progenitör hücre olarak bilinen primer spermatositlerdir.
- merkezde bulunan çekirdeği bir ya da iki koyu çekirdekçiğe sahiptir,
- 46 kromozom ve 4N DNA içermektedirler.

Primer spermatositler birinci mayoz bölünmenin profaz evresine geçer; bu süreç 22 gün sürmektedir ve bu uzun süreçten dolayı testis kesitlerinde seminifer tübüllerde, primer spermatositler çok sayıda gözlemlenebilmektedir (Aytekin ve Solakoğlu, 2004).

Sekonder spermatosit olarak adlandırılan hücreler, birinci mayoz bölünme sonucunda oluşan, 2 adet 23 kromozom ve 2N DNA içeren hücrelerdir. Bu hücreler hızlı bir interfaz evresi ile belirgin olmayan DNA sentezi süreciyle ikinci mayoz bölünmeyi geçirerek; her bir hücrelerinde 1N DNA içeren yani haploid olan 4 yeni hücre meydana getirmektedir ve bu hücreler spermatid adını almaktadırlar. Oluşan spermatidler spermiyogenez sürecine başlatmak üzere farklılaşmaktadırlar (Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006) (Şekil 2.9).



Şekil 2.9. Spermatogenez (Varghese ve ark., 2010).

2.8. Spermioyenez

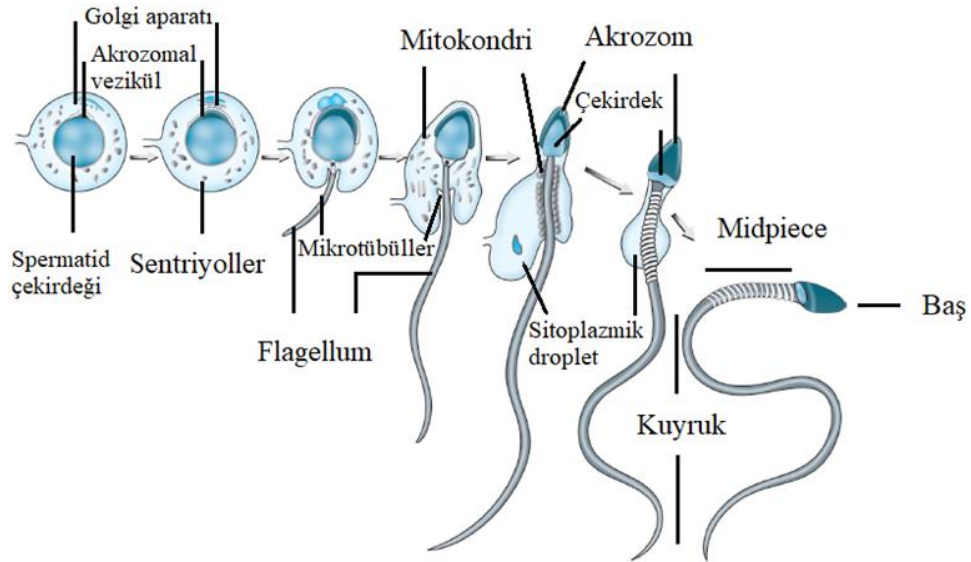
Spermatidlerin karmaşık bir sürece maruz kalarak spermatozoonlara dönüştükleri olaylar bütünü spermioyenez olarak adlandırılmaktadır. Bu süreç üç aşamada incelenebilmektedir;

Golgi fazı; Golgi kompleksinde PAS-reaktif granülleri (proakrozomal granüller) bir keseciğin içerisinde tek ve büyük akrozom granül oluşturmak üzere birleşir ve bu akrozomal vezikül içerisinde sentriyoller çekirdeğin anterior kutbunda konumlanır. Flagellum ve aksonem oluşumunun başlamasıyla, sentriyoller çekirdeğe

doğru gider ve aksonem bileşenleri etrafına sarılmaktadır (Mann ve Lutwak-Mann, 1981b).

Akrozomal evre; çekirdek, sitoplazma ve flagellumda geniş yapısal transformasyonu içeren akrozomal evresidir. Yoğunlaşmaya başlayan çekirdeğin ön kısmında geniş yer almakta olan akrozom vezikülü ve granülü, akrozom ve çekirdeğin türe özgü boyut ve şekil almasını sağlamaktadır. Seminifer tübül tabanına kadar spermatidler ve yoğunlaşması artan çekirdek uzar. Flagellum oluşturmak üzere sentriyollerden biri gelişmektedir. Flagellum proksimal bölümünde mitokondriyumlar toplanır ve bu bölge hareket enerjisi için kullanılır (Mann ve Lutwak-Mann, 1981b; Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006) (Şekil 2.10).

Olgunlaşma evresi; spermiyogenezin son evresi olan olgunlaşma evresinde Sertoli hücreleri ile spermatozoonun artık cisimleri fagozite edilmektedir ve spermatozoon tübül lümenine bırakılmaktadır (Mann ve Lutwak-Mann, 1981b; Çelik-Özenci ve Akkoyun, 2006).



Şekil 2.10. Spermiyogenez (Varghese ve ark., 2010).

2.9. Spermatozoon

2.9.1 Spermatozoon Genel Yapısı

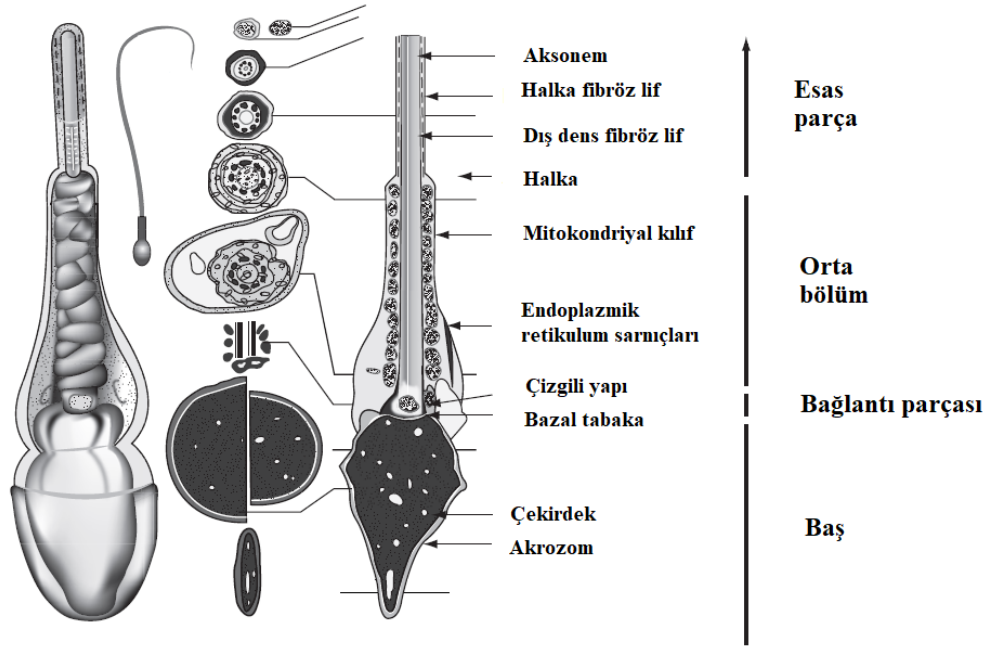
Spermatozoonların yaklaşık uzunlukları 60 μm 'dir (Holstein ve ark., 2003) ve morfolojik yapıları dört bölüme ayrılarak; baş, boyun, orta parça ve kuyruk olarak isimlendirilmektedir (Şekil 2.11).

Sperm hücresinin baş kısmı; oval bir biçime, 3 μm çap genişliğe ve 4-5 μm uzunluğa sahiptir (Turek, 2012). Baş kısmında sıkıştırılmış kromatinlerin olduğu bir çekirdek ve çekirdeği saran akrozom isminde, döllenmeden önce yumurta hücresinin dış kısmına nüfuz etmesi için (akrozom reaksiyonu) gerekli olan enzimleri içeren bir zara bağlı kısım bulunmaktadır (Yanagimachi, 1978).

Sperm hücresinin boyun kısmı çekirdeğin altında olan bağlantı parçasından ve proksimal sentriolden (9+0 mikrotübül yapılı) oluşmaktadır (Turek, 2012).

Sperm hücresinin boynunun kuyruk ile arasındaki küçük kısmında orta parça (mid-piece) bulunmaktadır ve burada mikrotübül yapısı 9+2 şeklinde proksimal sentriolden kuyruk ucuna kadar devam etmektedir (Turek, 2012).

Sperm kuyruğu yaklaşık olarak 1-2 μm çap (Holstein ve ark., 2003) ve 7-8 μm uzunluğunda olup ana ve terminal parçayı barındırmaktadır. Ana parça yoğun bir fibröz kılıfa sahip olup distale doğru ilerlemektedir; terminal parça ise fibröz kılıfın sona erdiği bölge olup, distale doğru 9+2 şeklindeki tübüler yapısı tek bir hale dönmektedir (Zamboni ve Stefanini, 1971; Turek, 2012).



Şekil 2.11. Sperm hücresi (Holstein ve ark., 2003).

2.9.2. Spermatozoon İletimi

Spermatozoonlar duktuli efferenslerle miyoid hücreler ve hareketli silyaların etkileriyle, epididimis kanalına (5-6 m uzunluğunda) yani kıvrımlı tübüle girerken ilerleyici motil yani fertilizasyon yeteneğine sahip değildir; ancak epididimis boyunca distale geçtiklerinde olgunlaşma sürecine girerek fertilizasyon yeteneğini elde ederler. Spermatozoonların yani sperm hücrelerinin, epididimal epitelyum ile sentezlenebilen ve de salgılanabilen proteinlerle etkileşimi sonucu ilerleyici motil hareketler kazandıkları bilinmektedir (Orgebin-Crist, 1969; Cornwall ve Horsten, 2007; Cooper ve Yeung, 2010; Fietz ve Bergmann, 2017).

Epididimis, sperm hücrelerinin akışını ileterek sperm hücrelerinin olgunlaşmasını, depolanmasını, sperm hücrelerinin yıkım ürünlerini emilmesini sağlar ve bu olaylar epididimisin kısımlarında gerçekleşmektedir;

- Kaput (epididimis başı) ve korpus (vücut) erken ve geç sperm olgunlaşma olaylarını ayırt edici şekilde yaparken, epididimisin kauda (kuyruk) bölgesi olgunlaşmış bu sperm hücreleri için depolama alanı oluşturmaktadır (Cornwall ve Horsten, 2007).

Amann (2008), spermatogenez etkinliği ile testis dokusunun sperm üretimini, gün başına yaklaşık olarak en az 6×10^6 adet olduğunu incelediği çalışmalar doğrultusunda göstermiştir.

2.10. Ejakülat Oluşumu

Ejakülasyon yani boşalma, spermin üretra yoluyla taşınmasını ve basıncın artırılmasıyla içeriğin çıkarılmasını sağlayan olaydır. Bu olay epididimis, duktus deferens, prostat, seminal veziküller, çizgili kaslar ve bülboürotal bezler sayesinde gerçekleşmektedir (MacLeod ve Hotchkiss, 1942; Björndahl ve ark., 2010a).

Ereksiyon halinde olmayan penis içerisinde kan akımı düşük miktardadır; parasempatik ve sempatik sinirlerin etkisi altında korpus kavernozum ve korpus spongiyozum içerisinde kan akışı artışı penil damarları ve kavernöz düz kasları etkileyerek penisin sertleşmesine neden olmaktadır. Bu ereksiyon durumu ejakülat atımı ile sonlanır ve penis yumuşak haline geri döner (Riva ve Aumüller, 1992; Björndahl ve Kvist, 2003).

Otonom sinir sisteminin kontrolünde gerçekleşen ejakülasyonda epididimisinde depolanan sperm hücreleri ile aksesuar bezlerinden gelen sıvılar karışarak ejakülatı oluşturmaktadır (WHO, 2010).

Ejakülasyonla ilk olarak atılan ilk semen prostat sıvısıdır ve sperm hücrelerince zengindir aynı zamanda bol miktarda çinko ve magnezyum içermektedir (Björndahl ve Kvist, 2003; Yoshida ve ark., 2008).

Toplam ejakülat hacminin % 60–70 arasını seminal vezikül salgısı oluşturmaktadır ve tam bir ejakülasyonda toplam salgının yarısı boşalmaktadır.

Seminal vezikül salgısı yüksek miktarda früktoz içermektedir ve bu sperm hareketliliği için enerji kaynağıdır (Amelar ve Hotchkiss, 1965; Yoshida ve ark., 2008).

Bulboüretal bez salgısı ejakülat içerisinde son derece az miktardadır (Amelar ve Hotchkiss, 1965).

Ejakülat hafif sarımsı bir renkte, pH değeri alkali (7.6-8.0) bir salgıdır ve sperm hücrelerinin miktarına bağlı olarak renk yoğunluğu değişebilmektedir (Amelar ve Hotchkiss, 1965; Riva ve Aumüller, 1992).

Üreme çağındaki sağlıklı bireyler her ejakülasyonda ortalama olarak 96 milyon adet sperm hücrelerini vücut dışına atmaktadır (Esteves, 2015).

2.11. İnfertilite ve Erkek İnfertilitesi

Cinsel olarak aktif çiftlerin en az bir yıl boyunca düzenli ilişki içerisinde olmalarına rağmen gebeliğin oluşmaması *infertilite* olarak tanımlanmaktadır. Doğurganlığa sahip sağlıklı genç çiftlerin, üreme döngüsünün gebelik ile sonuçlanma olasılığı yaklaşık % 20-25'tir. Kümülatif gebelik oranı ise cinsel aktivitenin ilk 6 ayı içinde % 60, ilk yılda % 84 ve ikinci yılında % 92'dir. (Kamel, 2010).

İnfertilite dünyada yaygın olarak gözlenen bir klinik problemdir. Dünya çapında en az on iki ay boyunca aktif cinsel hayat içerisinde olan çiftlerin % 13-15'inin gebelik ile sonuçlanmayan ilişki durumları gözlenmektedir. Bu durum infertilite olarak tanımlanmaktadır. (Cavallini, 2006; Kamel, 2010; ASRM, 2013).

Çiftlerin hayatları boyunca hiç bir gebelik durumuyla karşılaşmaması *primer infertilite*, gebelik oluşmuş fakat daha fazlasının oluşmadığı durumlar ise *sekonder infertilite* olarak isimlendirilmektedir (WHO, 1991; Nieschlag, 2010).

İnfertilite nedenleri ile ilgili araştırmalar yapılırken genetik etkilerin olup olmadığının araştırılması, doğacak bireyler üzerinde oluşturacağı potansiyel bir etki durumlarını da öngörebilmek açısından oldukça yarar sağlamaktadır (Moss, 2017).

Nedeni belirlenebilmiş infertilite problemlerinde nedensellik oranlarının ortalama olarak kabul gören değerleri (Cavallini, 2006; Esteves ve Agarwal, 2013);

- kadına bağlı nedenler % 40-50,
- erkeğe bağlı nedenler % 30-50 ve
- hem erkek hem de kadın nedenli infertilite %15-20 şeklinde dir.

Nedeni açıklanamayan vakalar ise idiopatik (açıklanamayan) infertilite olarak adlandırılmaktadır. İdiyopatik terimi, laboratuvar ortamlarında kullanılan yöntemler ile hiçbir etiyolojik neden bulunamadığı durumlarda kullanılır ve kısaca açıklanamayan infertilite olarak bilinmektedir. İnfertil çiftlerin üçte birinde görölmektedir (Cavallini, 2006).

İnfertilite vakalarının yaklaşık olarak % 30-50'si erkek faktörü nedenlidir (Oehninger, 1995; Cavallini, 2006; Kusz-Zamelczyk ve ark., 2012).

Günümüzde Dünya Sağlık Örgütü'nün 2010 yılındaki laboratuvar el kitabında yayınlanmış semen özelliklerinin değerleri doğrultusunda, en az bir örnekleme sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisi gibi sperm özelliklerinin herhangi birinin normal değerlerin altında çıkan sonuçlar erkek faktörü olarak kabul edilmektedir (WHO, 2010).

Erkek infertilitesinde en yaygın olarak görölen nedenler; ilerleyen yaşlar, çevresel etkiler, stres, varikosel, testis torsiyonu, konjenital faktörler, kriptorşidizm, sperm yokluğu, travmalar, ejakülatuar işlev bozuklukları, sistemik hastalıklar (diyabet, kanser, hemokromatozis vb.), uyuşturucu ve sigara kullanımı, genetik hastalıklar, kromozom anomalileri ve idiyopatik durumlardır (Jungwirth, 2012; Omu, 2013; Caprio ve ark., 2015; Sikka ve Hellstrom, 2016; Moss, 2017).

Erkek infertilitesinin;

- % 30'unun infertilite kaynağı idiyopatik durum içerisinde (Sabanegh ve Agarwal, 2012).
- % 5'i, anormal bir sayısal cinsiyet kromozomlarını içeren anomaliler bulunmaktadır (Kusz-Zamelczyk ve ark., 2012).
- % 5'inde akrozom reaksiyonu (AR) sorunu vardır; bunların yaklaşık yarısı AR yetmezliği ve yarısı AR prematüresini içermektedir. (Björndahl ve ark., 2010b).
- % 15'i varikozel kaynaklıdır ve bunun % 90'ı sol testiste % 10'u bilateral olarak görülmektedir (O'Rourke ve Allen, 2017a).
- % 10-15'inde azospermi görülmektedir ve bu durum tüm erkeklerin % 1'ini kapsamaktadır (Esteves ve Agarwal, 2013).

Azospermi

DSÖ'nün 2010 yılında yayınladığı el kitabında, azospermi 1981'de Eliason tarafından ilk olarak önerilen şekliyle "santrifüjlenmiş bir numunenin çöktisinde sperm hücrelerinin görülmemesi" olarak ifade etmiştir (WHO, 2010). Bununla birlikte Amerikan Üroloji Derneği (AUA) daha ayrıntılı bir tanım kullanmakta ve azospermiyi: "15 dakika boyunca 300 x g'de santrifüjlemeden sonra sperm hücrelerinin görülmemesi" şeklinde tanımlamaktadır (Aziz, 2013).

Azospermik hastaların numunesi normal likefiye semen görüntüsü olan homojen gri-opalesan görünüme sahip değildir ve daha az opak görünmektedir (Aziz, 2013).

Son zamanlarda yapılan araştırmalar erkek infertilitesinde akrozom reaksiyonu kaynaklı sperm defektlerinin ve bu defektlere neden olan antisperm antikor ve serbest radikallerin, fertilizasyon başarısındaki kayıpların büyük oranda nedeni olduğunu da göstermektedir (Tomar ve ark., 2012).

Erkek infertilitesi ile ilgili araştırmalar yapılırken genetik etkilerden dolayı infertilite probleminin oluşabilme ihtimalini göz önünde tutmak, aynı zamanda doğacak bireylerin üzerinde potansiyel bir etki yaratma durumunun oluşumu hakkında yardımcı olmaktadır. Örnek olarak testis veya lenf kanserine sahip erkek bireylerde kendini gösteren ilk durum infertilite olmaktadır (Moss, 2017).

Fertilizasyon kapasitesinin (destekli ve desteksiz) değerlendirilmesi, çiftlerin giderek artan şekilde ebeveynliği geciktirmesi, bunun sonucunda ilerleyen yaşlara sahip olmaları ve günlük stres etkisi gibi faktörler, erkek fertilitate problemlerinden bağımsız olarak etkilenmektedir (Moss, 2017).

IVF (in vitro fertilizasyon), ICSI (intrastoplazmik sperm enjeksiyonu) ve TESE (testiküler sperm ekstraksiyonu) gibi gelişmeler sayesinde geri döndürülemez olarak görülen erkek faktörü kaynaklı infertilitelere geğmişe göre günümüzde daha aza indirgenebilmektedir (Esteves, 2013; Moss, 2017).

2.12. Semen Analizi (Spermiyogram)

İnfertilite problemlerinde erkek faktörüyle ilişkili bir durumun değerlendirilmesinde ilk başvurulan tanı yöntemi semen analizi testidir (Cooper ve ark., 1991; Moss, 2017).

Standart semen analizi (spermiyogram) testi, idiyopatik infertilite durumlarında herhangi bir anormalliği tespit edememesi, sperm disfonksiyonunu göstermemesi veya yumurtayı döllemek için sperm hücrelerinin fonksiyonu hakkında bilgi vermemesine rağmen; seminifer tübüllerin, epididimisin ve aksesuar bezlerin fonksiyonları hakkında bilgi sağlaması açısından oldukça önemlidir; bu yüzden erkek infertilitesinin rutin tanısının değerlendirilmesi için kullanılan ilk adımdır (De Jonge ve Barratt, 1999; Guzick ve ark., 2001; Esteves ve ark., 2012).

İnfertil bireyin biyolojik değişkenlikleri göz önünde bulundurularak kesin bir sonuca varmadan önce semen analizi testi, farklı haftalarda en az iki defa ve tercihen üç defa semenden alınan örneklerde tekrarlanmalıdır (Esteves ve ark., 2012).

Semen analizi testinde belirlenemeyecek birçok neden infertilite problemidir. Bu nedenle test sonucunun uzman ürolog veya erkek üreme sistemi alanında uzmanlaşmış bireyler tarafından değerlendirilmesi, infertilitenin asıl kaynağını anlamada oldukça önemlidir (Moss, 2017).

Semen analizi testi ciddi standardizasyon eksikliği içermektedir (Harvey ve Hadley, 1945; Walczak-Jedrzejowska ve ark., 2013). 1980'den bu yana DSÖ, semen ve servikal mukus değerlendirmesi üzerine yayınladığı kitapları uzun yıllar boyunca bu alanın gelişmesinde büyük katkı sağlamıştır. DSÖ'nün ilk laboratuvar el kitabı 1980 yılında, diğerleri sırasıyla, 1987, 1992, 1999 ve 2010 yılında yayınlanmıştır (WHO; 1980, 1987, 1992, 1999, 2010).

DSÖ laboratuvar el kitabının en son baskısı (WHO, 2010) önceki versiyonlarda yayınlanan değerlerin, mevcut literatür ile uyumsuzluğundan dolayı eleştirilere maruz kalmış ve çoğu veri düzeltilerek yayınlanmıştır. Tablo 2.1, DSÖ kılavuzlarında yayınlanan yıllar içerisinde değişen semen parametrelerinin alt referans değerlerini özetlemektedir (Sikka ve Hellstrom, 2016).

DSÖ (2010) laboratuvar el kitabı, dünya çapında yapılmış çeşitli prospektif spermiyogram çalışmalarının istatistiksel olarak elde edilmiş referans alt sınırlarını listelemektedir. Referans değerlerinin elde edilmesi, 3 kıta, 7 ülke ve 5 farklı çalışmanın oluşturduğu; toplamda 1953 bireyin semen örneği üzerinde yapılan analiz verilerinin sonuçlarıdır. Bu değerler, sadece fertil bir popülasyonun içerisinde elde edilen sonuçların olasılıklarıdır ve doğurganlık tanısı için gereken kesin değerler değildir. Anormal semen değerleri, hastanın ileri klinik değerlendirmesini gerektiren muhtemel erkek infertilitesi olarak görülmektedir (WHO, 2010).

ESHRE, 1984'de Jean Cohen'in önderliğinde kurulmuştur ve 1996 yılında *insan üreme* (human reproduction) isimli bilimsel dergiler yayınlanmaya başlamıştır. ESHRE kurulduğu tarihten itibaren, her yıl çeşitli ülkelerde semen analizi üzerinde eğitim amaçlı ve sertifika programları içeren toplantılar düzenlemektedir. ESHRE, DSÖ'nün yayınladığı kitaplar dahilinde revize edilerek gerçekleştirilen eğitimleri ile, aynı zamanda DSÖ'nün belirlediği kriterleri ve semen analizi değerlendirilmesinde en iyi metodun belirlenmesi amacına yönelik bilimsel çalışmaları sayesinde semen

analizi ve yardımcı üreme tekniklerinin standardizasyon eksikliğine de katkı sağlamaktadır (Brown, 2005; Björndahl ve ark., 2016).

Semen analizi testi sperm hücresinin makroskopik (likefaksiyon, viskozite, pH, hacim, renk ve koku) ve mikroskopik (sperm konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi, vitalitesi, anormal durum gözlemlendiğinde lökosit miktarı, sperm aglütinasyonu veya agregasyonu) olarak değerlendirilmesini kapsamaktadır (Esteves ve ark., 2012; WHO, 2010). Tablo 2.2’de semen analizi testinde uygulanan işlemler ve bu işlemlerin gerçekleştirilmesi için en uygun süreler gösterilmektedir (Björndahl ve ark., 2010c).

Tablo 2.1. Ardışık olarak WHO kılavuzlarında yayınlanmış semen özellikleri için alt sınır değerleri.

Semen Özellikleri	WHO 1980 1.	WHO 1987 2.	WHO 1992 3.	WHO 1999 4.	WHO 2010 5.
Hacim (mL)	Tanımsız	≥ 2	≥ 2	≥ 2	1.5
Konsantrasyon ($10^6/\text{mL}$)	20-200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	15
Total sperm sayısı (10^6)	Tanımsız	≥ 40	≥ 40	≥ 40	39
Total motilite (%)	≥ 60	≥ 50	≥ 50	≥ 50	40
Progresif (İleri) hareket (%)	≥ 2	≥ 25	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	32 (a+b)
Vitalite, canlı (%)	Tanımsız	≥ 50	≥ 75	≥ 75	58
Morfoloji (Normal %)	80.5	≥ 50	≥ 30	14	4
Lökosit ($10^6/\text{mL}$)	< 4.7	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0

Tablo 2.2. Semen analizi testinin değerlendirilmesinde izlenecek yollar ve süreleri.

İlk olarak	<p>Hasta numune kabına hasta isim ve soyismi kaydedilir.</p> <p>Hasta raporu oluşturulur.</p> <p>Numune verildikten sonra 37°C'lik etüve kaldırılır.</p>
15-30 dakika içerisinde	<p>Semenin makroskopik incelemeleri yapılır.</p>
30-60 dakika içerisinde	<p>Semenin mikroskopik incelemeleri yapılır.</p> <p>Neubauer hemasitometresi kullanılacaksa eğer dilüsyonu hazırlanır.</p> <p>Morfoloji değerlendirilmesi için yayma preparat hazırlanır.</p> <p>Hareketli sperm sayısı % 40'ın altında olan numuneler için vitalite yapılmalıdır ve bunun için yayma preparat hazırlanır.</p> <p>Biyokimyasal inceleme istenen numuneler için santrifüjleme işlemi yapılır.</p>
Daha sonra	<p>Neubauer kullanımı için hazırlanan dilüsyon değerlendirilir.</p> <p>Lökosit miktarı ya da yuvarlak hücre sayısı 1×10^6 /mL' den fazlaysa preparat hazırlanır.</p> <p>Biyokimyasal analizler değerlendirilir. Sperm morfolojisi ve vitalitesi değerlendirilir.</p>

2.12.1 Semen Numunesinin Toplanması

Numune verecek olan hastanın kullanacağı oda, örneğin teslim edileceği laboratuvarın yakınında olmalıdır; semen özelliklerinin sıcaklıkla değişime uğraması bu sayede engellenmektedir. Hastanın 2-7 gün arasında cinsel perhize sahip olması istenmektedir. Hastaya numunesinin tam olarak toplanmasının gerekliliği hakkında sözlü veya yazılı olarak bilgilendirme yapılmalıdır. Hastaya numunesini koyabileceği, steril cam ya da plastik bir kap verilir. Bu kap hastaya verileceği zaman poşetinden çıkarılıp, ağırlığı tartılıp, üzerine hastanın isim ve soyisimi yazılarak verilmektedir. Hasta örneği laboratuvara ulaştırdıktan sonra numune kabı üzerine tarih ve örnek verdiği saat eklenerek, kısa süre içerisinde inkübatöre (37°C) kaldırılır (WHO, 2010).

Hasta numunesini vereceği odada kalma süresinin kısıtlı olduğunu hissettiği durumlarda stresle karşılaşabilmektedir. Ejakülat kalitesinin numune verme için harcadığı süre ile anlamlı bir ilişki içerisinde olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir, bu yüzden hastayı strese sokabilecek herhangi bir uyarı şekli oluşturulmamalıdır (Pound ve ark., 2002).

Hasta laboratuvar yakınındaki oda içerisinde numune veremediği durumlarda evden getirebilmektedir. Bunun için de yine hastaya numune vermesiyle ilgili gerekli bilgilendirme yapılmalıdır. Ayrıca numuneyi vereceği saatin kaydedilmesi ve laboratuvara en fazla bir saat içerisinde teslim etmesi gerektiği anlatılır ve kap yine boş olarak tartılarak hastaya verilebilir (WHO, 2010; Björndahl ve ark., 2010c).

Hastanın cinsel ilişki ile numune vermesi gereken bazı özel durumlarda semen toplanması için uygun kondomlar kullanılabilir. Kullanılan kondomların laboratuvara getirilene kadar ağzının kapalı tutulması gerektiği hastaya iletilmelidir (WHO, 2010).

Hastanın raporunda, hastanın numune vermesiyle ilgili oluşan özel durumlar (evde ya da kondomla vb) kaydedilmektedir. Hasta numunesini verirken ejakülatın ilk kısmının kabın dışarısına aktarıldığını bildirirse bu not olarak hasta raporuna kaydedilmektedir. Ejakülatın ilk kısmı sperm hücrelerinin yoğun olan kısmıdır ve

bunun bildirilmemesi semen analizinin mikroskopik değerlerinin dūřuk çıkması sonucunda yanlış tedavi uygulanmasına yol açabilmektedir (WHO, 2010).

2.12.2. Semen Makroskopik Değerlendirilmesi

Semenin deęerlendirilmesinin 15-60 dakika içerisinde gerçekleřtirilmesi gerekmektedir (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010). Makroskopik incelemede; semenin pH, renk ve kokusu, hacmi, likefaksiyon sūresi ve viskozite durumu deęerlendirilmektedir. 1950 yılında semen analizi çalıřmalarının bařlangıcından bugūne kadar makroskopik incelemenin içerięi ve normal kabul edilen deęerleri nispeten bir deęiřime uęramamıřtır (Sabanegh ve Agarwal, 2012).

Likefaksiyon

37°C'lik inkūbatōrde genellikle 15 dakika içerisinde; normalde seminal vezikūllerin salgısı makro proteinlerin varlıęıyla yarı katı koagūle gōrūnūmūnde olan semen, homojenleřmiř sıvı halini almaktadır. Semen numunesini pipet aracılıęıyla karıřtırılması, içerisinde var olan kıvamlı yapıları çözmede yardımcı olmaktadır. Likefaksiyon sūresi 60 dakikaya kadar normal olarak kabul edilmektedir. 60 dakikalık sūreyi geçen likefaksiyon durumları hasta raporuna not edilmelidir. Likefaksiyonu tamamlanan semen numunelerinin hareketli sperm sayısını belirlemede daha doęru sonuçlar vermektedir; bu yūzden 60 dakika içerisinde likefiye olmamıř semen miktarı ile eřit fizyolojik medyum, pipet yardımıyla karıřtırılabilir ve bu sayede sıvılařma oluřturulabilir (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).

Viskozite

Likefaksiyonu tamamlanan semen vakit geçmeden viskozitesi için değerlendirilmektedir. Bunun için bir pipet yardımıyla semenden biraz örnek alınmaktadır ve yerçekimi etkisiyle pipetden dışarıya dōkūlen semenin damlama ya

da sünme durumu gözlenmesi gerekmektedir. Damlama şeklinde dökülen semen normal olarak kabul edilmektedir. 2 cm'den daha uzun oluşan sünme halindeki semen visköz olarak değerlendirilmekte ve bu anormal durum rapora not edilmektedir (WHO, 2010).

Visköz ve likefiye olmamış semen numuneleri genel olarak aksesuar bezlerin anormal fonksiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Aşırı viskozite durumu sperm değerlendirmesinde oldukça güçlük çıkarmaktadır; doğru sperm sayı ve hareketinin bulunması açısından semen numunesi eşit oranda fizyolojik medyum ile karıştırılarak değerlendirmeye geçilebilmektedir (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).

Renk ve Koku

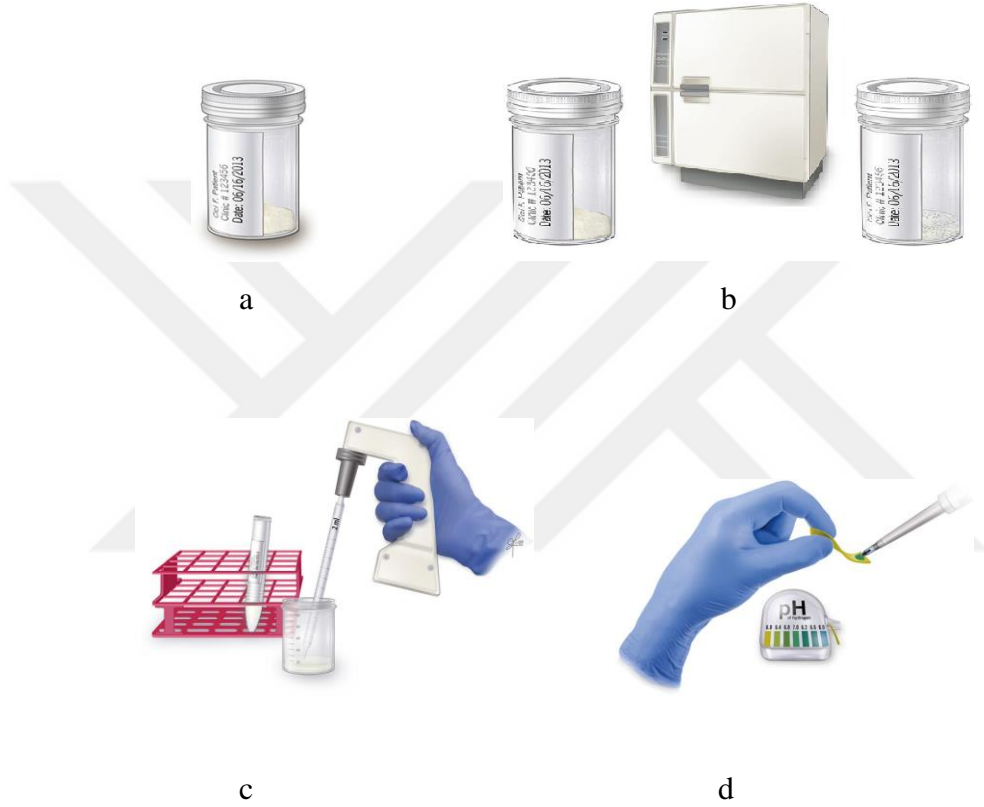
Likefiye olmuş normal bir semen numunesinin rengi, gri-beyaz ve opaktır. Eğer sperm sayısı düşük olan bir numuneyse görünümü daha az opaktır ve eğer numune içerisinde eritrositler bulunuyorsa renk kırmızı-kahverengi şeklindedir. Semen kokusu; keskin bir koku gelmediği sürece normal olarak kabul edilebilmektedir (WHO, 2010).

Hacim

Hastaya verilecek olan kabın ağırlığı hastaya teslim etmeden önce tartılmaktadır. Hasta numunesini laboratuvara teslim ettikten sonra, 37°C'lik etüv içerisine kaldırılıp likefiye olmasını beklemeden, tekrar tartılabilir ve kutu ağırlığı içerisinden çıkarılarak hacim belirlenebilmektedir. Bunun dışında semen hacmi direkt cam serolojik pipetleriyle de belirlenebilir. Semen hacminin % 70'i seminal veziküllerden sağlanmaktadır (Majzoub ve Sabanegh, 2016). DSÖ 2010 laboratuvar el kitabında semen hacmi için alt sınır değeri 1,5 ml olarak belirlemiştir (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).

pH

Semen, seminal vezikül sekresyonu (alkali) ve prostat sekresyonu (asidik) etkisi ile dengeli bir pH'ya sahiptir. pH kağıdı üzerine bir damla semen sürülerek semen homojen denge sağlandıktan sonra kağıt üzerindeki değer rapora kaydedilmektedir. pH'sı için DSÖ 2010'da kabul edilen eşik değeri 7,2'dir (WHO, 2010).



Şekil 2.12. Semen pH ölçümü. a) Semen bulunan numune kabı, b) Semen numunesi ve 37°C'lik etüvde eriyen semen numunesi, c) Serolojik pipet ile hacim ölçümü, d) pH belirlenmesi (Agarwal ve ark., 2016).

2.12.3. Semen Mikroskopik Değerlendirilmesi

Likefiye semen numunesinin mikroskopik değerlendirilmesi; içerisinde mukus iplikçikleri, sperm hücrelerinin dışında yuvarlak hücre varlığı ve aglütinasyon ya da agregasyonu gösteren durumları incelemekle başlamaktadır ve bunun için DSÖ 2010'un önerisi faz-kontrast mikroskopunun x10 büyütmeli oküleri ve x10 büyütmeli

objektifi ile görüntünün incelenmesidir. Daha sonra sperm konsantrasyonu ve sperm hareketliği için x20 objektif ya da x40 objektif kullanılarak işlem gerçekleştirilmektedir. Likefiye semen örneğinin mikroskopik değeriendirilmesine başlarken semenin bir pipet yardımıyla iyice karıştırılması semen içerisinde homojen bir denge yaratır ve bu şekilde konsantrasyon, motilite, vitalite ve morfoloji değeriendirmesinde doğru sonuçlar alınmasını sağlar (WHO, 2010).

Islak Preparat hazırlama

Islak Preparat; sperm hücrelerinin aglütinasyon veya agregasyonu oluşturma durumlarının ve semen içerisinde sperm hücreleri dışında var olan yuvarlak hücrelerinin (lökosit, immatür germ hücreleri vb.) gözlenebilmesi için en iyi yöntemdir. Bu yöntem aynı zamanda sperm motilite hesaplanması için de kullanılabilir (Björndahl ve ark., 2010c).

Doğru sonuçların alınması için hazırlanacak olan Islak Preparatın derinlik alanının yaklaşık 20 µm olması oldukça önemlidir. Sperm hücrelerinin hareketlerini engellemeyecek olan bu değeri aynı zamanda yuvarlak hücrelerin sayımını da kolaylaştırmaktadır (Lannou ve ark., 1992).

Islak Preparat hazırlarken numunenin iyice karıştırılması, homojenliğin artırılması gerekmektedir. Lam ve lamel kullanımıyla gerçekleşen bir işlem olduğu için işleme geçmeden önce lam ve lamel 37°C'lik inkübatörde bekletilmelidir (NAFA ve ESHRE-SIGA, 2002).

Kullanılacak olan lamel boyutuna göre semen miktarı belirlenir ve bu, preparat derinliğinin olması gereken yaklaşık 20 µm'lik değeriine uygun olması gerekmektedir. Preparat derinliği µm; numune hacmi, µl/mm³ ve lamel, mm² şeklindeki ölçüm değeriilerine sahiptir (WHO, 2010).

Preparat derinliği; numune hacminin numunenin yayıldığı alana bölünmesiyle bulunmaktadır. Buna göre örnek lamel kullanımı için derinlik hesaplama aşığıdaki gibidir;

- 22 mm x 22 mm'lik lamel kullanımı için, lam üzerine eklenecek 10 µl'lik semen, 20.7 µm'lik derinlik oluşturmaktadır.
- 18 mm x 18 mm'lik lamel kullanımı için, lam üzerine eklenecek 6,5 µl'lik semen, 20.1 µm'lik derinlik oluşturmaktadır.

Yeterli miktarda semen, lam üzerine bir damla şeklinde pipet yardımıyla yerleştirilmelidir ve doğru lamel kullanımı ile derinlik sağlandıktan sonra kapatılmaktadır; eğer kapatma sonrasında hava kabarcığı oluşma durumu gözlenirse preparat tekrar hazırlanır (Björndahl ve ark., 2010c).

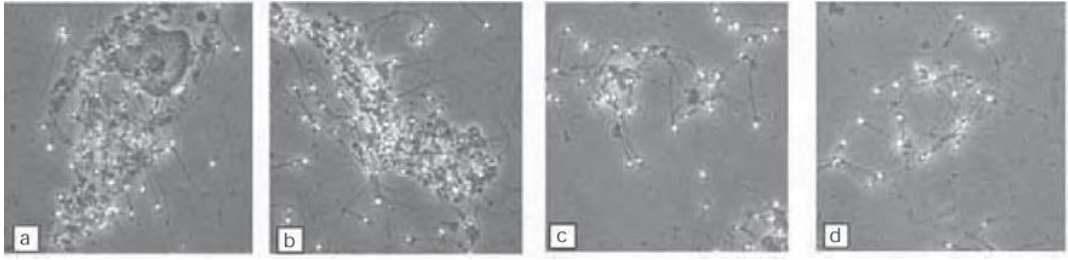
Islak Preparat için kullanılacak mikroskop faz-kontrast mikroskobudur ve bu mikroskobun; x10'luk ya da x20'lik objektifi altında sperm hücrelerinin aglütinasyon ya da agregasyonu ile sperm dışı hücrelerin yoğunluğu, x20'lik ya da x40'lik objektifi altında sperm analizi gerçekleştirilmektedir. Islak Preparat hazırlandıktan bir dakika sonrasında yuvarlak hücre ve sperm aglütinasyonu ya da agregasyonu gözlenmeli ardından kısa süre içerisinde sperm sayımı gerçekleştirilmektedir. Bir dakika içerisinde sperm akışının durmaması gözlenirse sperm hareketlerinin yanlış yorumlanmasına neden olacağı için preparat tekrar hazırlanmalıdır (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).

İlk İnceleme; Sperm Aglütinasyonu ve Agregasyonu

Hareketli sperm hücrelerinin semen içerisindeki herhangi bir döküntüden bağımsız olarak birbirleri ile oluşturdukları bir temas aglütinasyon göstergesidir; spermlerin baş-başa, kuyruk-kuyruğa ya da birbirlerine karışık şekillerde dolanmaları şeklindedir. Aglütinasyon dereceleri (izole, orta, geniş ve yoğun) belirlenerek, hareketli sperm hücrelerinin hangi kısımlarının birbirlerine yapışma gösterdikleri de eklenerek hasta raporuna kaydedilmektedir (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010). DSÖ 2010 verilerine göre aglütinasyon dereceleri ve şematik çizimi Şekil 2.14'de gösterilmektedir.

Hareketsiz sperm hücrelerinin birbirleri dışında semen içerisindeki sperm dışı hücreler ya da mukus iplikçiklerine yapışmasının görülmesi agregasyon olarak

isimlendirilmekte aynı zamanda nonspesifik kümeleşme olarak da bilinmektedir (Şekil 2.13).



Şekil 2.13. Agregasyon. a) Epitel hücresi, b, c ve d) Kümeleşmiş sperm hücreleri (WHO, 2010).

		Aglütinasyon Dereceleri			
		1. Derece <10 sperm/ aglutinat	2. Derece 10-50 sperm/ aglutinat	3. Derece >50 sperm/ aglutinat	4. Derece Tüm spermeler aglutine ve bağlantılı
Baş-baş					
Kuyruk-kuyruğa					
Kuyruk ucu- kuyruk ucuna					
Karışık					
Baş ve kuyruk ayırt edilemez					

Şekil 2.14. Aglütinasyon şematik çizimi ve dereceleri (WHO, 2010).

Sperm Dışı Hücreler

Semen numuneleri içerisinde genellikle döküntü hücreler görülebilmektedir. Bu hücre yoğunlukları doğru olarak belirlenip hasta raporuna kaydedilmelidir (WHO, 2010).

Yuvarlak hücreler; Semen içerisindeki genellikle olgunlaşmamış germ hücreleri ve lökositlerdir (Johanisson ve ark., 2000). Daha az miktarda prostat kökenli yuvarlak hücreler ayrı gözlenmektedir. Neubauer Hemositometresi ya da Makler Sayım Kamarası içerisinde yuvarlak hücrelerin tam sayısı hesaplanabilmektedir. Germ hücreleri ve lökosit ayrımları boyalı preparatlarda yapılabilmektedir. Yuvarlak hücre için DSÖ (2010) üst sınır değeri 1 mil/ml'dir. Yuvarlak hücre konsantrasyonu; sperm konsantrasyonunun yuvarlak hücre sayısı ile çarpılıp alandaki tüm sperm sayısına bölünmesiyle hesaplanmaktadır.

Eritrositler; Semen içerisinde kırmızı kan hücreleri olan eritrositler gözlemlendiğinde patolojik bir durum teşkil ettiği için hasta raporuna mutlaka kaydedilmelidir (WHO, 2010).

Epitel hücreleri; Pul pul ya da kübik gözlenebilen epitel hücreleri bazı durumlarda semen numunesi içerisinde gözlenebilmektedir (WHO, 2010).

Bakteri ya da protozoa; Yüksek oranda görülen bakteri varlığı patolojik bir durumdur ve sağlıklı normal bir semen içerisinde bulunmaması gerekmektedir; bu durum oluşmuşsa hasta raporuna kaydedilmelidir (WHO, 2010).

Sperm Motilitesi

Sperm motilitesini belirlemek için Islak Preparatlardan iki adet hazırlanmakta ve her preparatta en az 200 sperm hücresi sayılmaktadır. Lam içerisinde en az dört homojen alan belirlenmeli ve aynı alanın sayımından kaçınılmalıdır; bu sayede daha doğru bir motilite değerlendirilmesi yapılmış olacaktır. İnceleme, faz kontrast mikroskopunda ve x40'lık objektif altında gerçekleştirilmelidir. Daha doğru sonuçlar

için video kaydı yapılabilen bir mikroskop kullanılması önerilmektedir (Björndahl ve ark., 2010c). Sıcaklık değişiminden sperm hücrelerinin hareketlerinin etkilenmemesi için mümkün olan en kısa sürede sayım işlemleri gerçekleştirilmelidir. Sperm hücrelerinin hareketleri; ileri hızlı hareketli, ileri yavaş hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz olarak dikkate alınarak sınıflandırılmalıdır. Sperm hareketlerinin belirlenmesinde ilk önce ileri hareketli sperm hücreleri değerlendirilir, daha sonra aynı alan içerisindeki yerinde hareket eden ve hareket etmeyen sperm hücreleri sayılarak, 200 sperm hücrelerinin hareket verisi elde edilene kadar işlem farklı alanlarda devam ettirilir (Şekil 2.15) (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).

DSÖ'ye göre sperm motilite sınıflandırılması;

- Progresif Hareket (PR): İleri hareket eden ve hızdan bağımsız doğrusal hareket içerisinde olan sperm hücreleri (a: 25 $\mu\text{m}/\text{sn}$ veya daha hızlı; b: 25 $\mu\text{m}/\text{sn}$ 'den yavaş)
- Nonprogresif Hareket (NP): Yerinde hareketli ve hiçbir ilerleyici hareketi bulunmayan sperm hücreleri (c)
- İmmotilite (IM): Hareket etmeyen sperm hücreleri (d) şeklindedir.

Her iki preparat içerisinde hareket ayrımları yapılan sperm hücrelerinin yüzdeleri belirlenir. İki preparat içerisinde sayılan sperm hücrelerinin ortalama yüzdeleri arasında kullanılabilir olduğundan emin olunması gerekmektedir. Bunun için DSÖ 2010'da kullanılabilir farklılığı gösteren veriler Tablo 2.3'de gösterilmiştir. Buradaki tablo içerisinde uygun olmayan veriler elde edilirse işlem tekrar edilmelidir ve yeniden kısa süre içerisinde Islak Preparatlar hazırlanmalıdır (WHO, 2010).

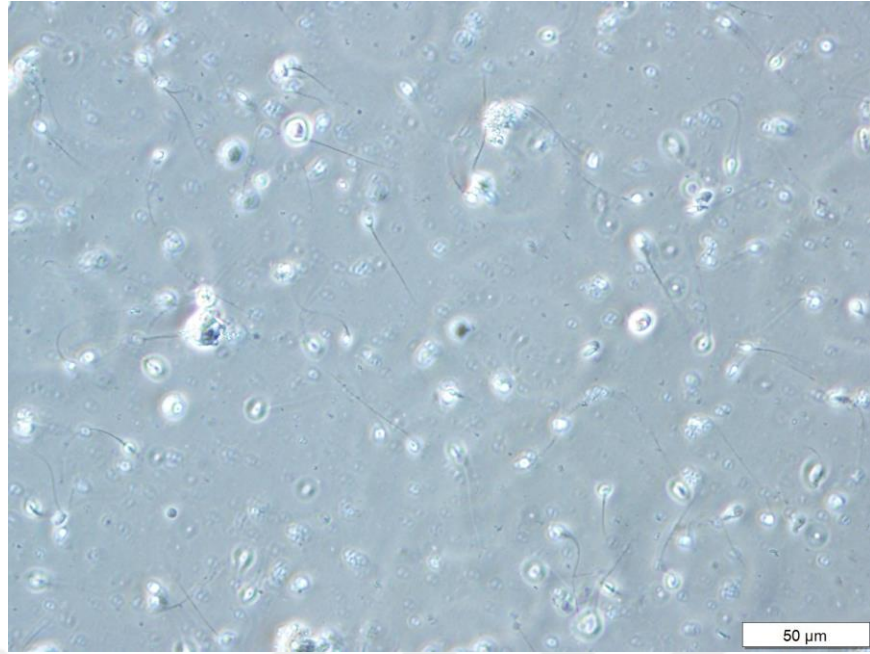
Sperm motilitesinin normal değerleri için DSÖ (2010)'ye göre alt sınırları;

Progresif Hareket (a+b) = % 32

Progresif Hareket + Nonprogresif Hareket (a+b+c) = % 40 şeklindedir.

Tablo 2.3. WHO 2010 laboratuvar el kitabında iki sayım arasındaki kullanılabilir yüzde farklılıkları.

Ortalama (%)	Kabul Edilebilir Fark
0	1
1	2
2	3
3-4	4
5-7	5
8-11	6
12-16	7
17-23	8
24-34	9
35-65	10
66-76	9
77-83	8
84-88	7
89-92	6
93-95	5
96-97	4
98	3
99	2
100	1



Şekil 2.15. Lam-lamel arası Islak Preparat ile hazırlanan semen görünümü.

Makler Sayım Kamarası

1978 yılında Prof. Dr. Amnon Makler tarafından geliştirilen sperm sayım kamarası, sperm konsantrasyonunu, toplam sperm sayısını ve sperm motilitesini belirlemek için kullanılmaktadır (Makler, 1978).

Makler Sayım Kamarası (Şekil 2.16) 10 µm'lik bir derinliğe sahiptir ve bu derinlik sperm hücre hareketini kısıtlamamaktadır. Makler Sayım Kamarasının üst camında 0,1 x 0,1 mm boyutlarında 100 kare bulunur. 1 ml'deki sperm hücresi 10 kare içerisinde sayılan tüm sperm hücrelerinin 1 milyon ile çarpılmasıyla elde edilir. Makler Sayım Kamarası içerisine 5-10 µl arasında semen numunesi dilüe edilmeden direkt olarak tahta çubuk ya da pipet ile damlatılarak, faz-kontrast mikroskopunun x200 ya da x400 büyütmesi (objektif x20 ya da x40, oküler x10) altında hem sperm hareketliliği hem de sperm konsantrasyonu belirlenebilmektedir (Makler, 1980; Ludwig ve Frick, 1987; Fisch ve ark., 1996; Jequier, 2000). Makler Sayım Kamarasının camında ızgara bölümleri bulunmaktadır (Şekil 2.18). Cam üzerindeki ızgara bölümleri (10x10 kare) sperm hücrelerinin sayımını ve sperm hücrelerinin hareketlerini belirlemede kolaylık sağlamaktadır; ızgara içerisinde görülen her sperm

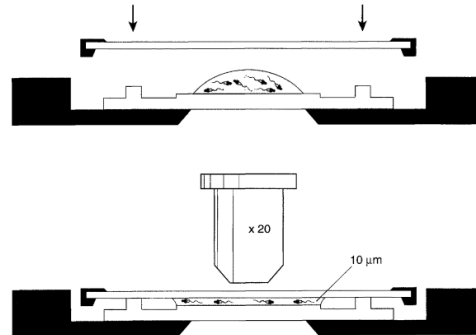
başı, sayıma dahil edilmektedir (Makler, 1978). Makler Sayım Kamarasında hareketsiz sperm hücreleri kamaranın altında kalırken hareketli sperm hücreleri kamaranın üst kısmında yüzer (Ludwig ve Frick, 1987) (Şekil 2.17). 10 kare içerisinde sayılan toplam spermler; motilite yüzdeleri ve sperm konsantrasyonunu (mil/ml) belirlemektedir. (Makler, 1978; Jequier, 2000).

Makler Sayım Kamarasında sperm motilite yüzde değerleri;

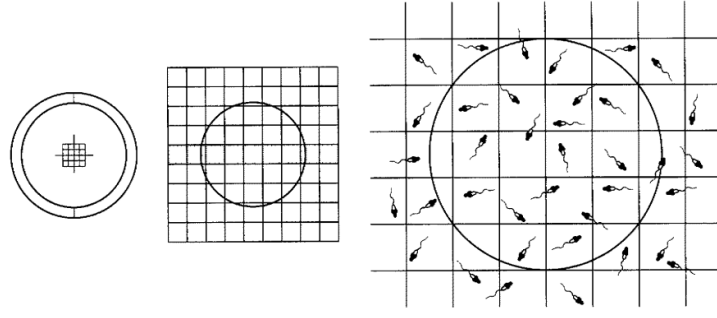
- Toplam sperm sayısı / a hareketi x 100 = a hareket yüzdesi
 - Toplam sperm sayısı / b hareketi x 100 = b hareket yüzdesi
 - Toplam sperm sayısı / c hareketi x 100 = c hareket yüzdesi
 - Toplam sperm sayısı / d hareketsiz x 100 = d hareketsiz yüzdesi
- şeklinde hesaplanmaktadır (Biotech, 20 Mart 2018).



Şekil 2.16. Makler Sayım Kamarası a ve b.



Şekil 2.17. Makler Sayım Kamarası içerisinde hareketli ve hareketsiz sperm hücrelerinin konumu (Ludwig ve Frick, 1987).



Şekil 2.18. Makler Sayım Kamarasının mikroskop altındaki görüntüsünün şematik çizimi (Jequier, 2000).

Sperm Konsantrasyonu

Sperm konsantrasyonu; erkek infertilitesi için semen analizi sonucunun yorumlanmasında oldukça önemlidir (Mahmoud ve ark., 1997). MacLeod ve Gold 1953'deki 1600 fertil çiftten oluşan çalışmasında, erkek bireylerin % 95'inin sperm konsantrasyonlarının 20 mil/ml'den yüksek olduğunu ve bu sonucun fertilizasyon başarısı ile sperm konsantrasyonunun ilişkili olduğunu göstermiştir (MacLeod ve Gold, 1953).

Sperm sayım yöntemleri; Lateks Boncuk, Makler Sayım Kamarası, Gelişmiş Neubauer Hemositometresi, Horwells, CASA ile Cell-u ve Cell-vision tek kullanımlık kamaraları olmak üzere geniş bir çeşitlilik içerisinde. Sperm konsantrasyonunun belirlenmesi için geliştirilen sayım yöntemlerinden en uygun olanı birçok çalışma ile araştırılmıştır. 1993'de Imade ve arkadaşları konsantrasyon belirlenmesi için Neubauer, Makler ve Horwells kullanmış, bu çalışmada Makler Sayım Kamarasının, diğer iki yöntem arasında bir değerde bulunduğunu bu yüzden ikisine oranla daha doğru bir sonuç verdiğini söylemişlerdir (Imade ve ark., 1993). Bazı çalışmalar hareketli sperm hücrelerinin yer değiştirmelerinden dolayı konsantrasyon belirlenmesinde kesin sonuçlara Makler Sayım Kamarası ile ulaşamayacağı ve bu durumun önüne geçmek için semen numunesine, sperm hücrelerinin ölmelerini sağlayacak solüsyonlarla dilüe edilmesine olanak sağlayan sayım yöntemlerinin kullanılmasının tercih edilmesi önerilmiştir (Mortimer ve ark., 1989; WHO, 1992). Mahmoud ve arkadaşları 1997'de sperm konsantrasyonunu belirlemek için birçok yöntemi karşılaştırmıştır; bu çalışmaya göre, Lateks Boncuk

kullanımının sperm konsantrasyonunu yükseltme ve azaltma eğiliminde olduğunu, Bürker kullanımının sperm konsantrasyonunu yüksek belirlediğini, Cell-vu ile Cell-vision tek kullanımlık kamaraların ve Makler Sayım Kamarası ile Gelişmiş Neubauer Hemositometresinin yakın değerler içerisinde olduğunu göstermiştir (Mahmoud ve ark., 1997). Ayrıca DSÖ 1987 ve 1992’de yayınladıkları el kitabında sperm konsantrasyonu için Neubauer Hemositometresinin önerilmesi ve diğer sayım kamaralarına göre en düşük sperm konsantrasyonunu belirlemesinden dolayı, sperm konsantrasyonu için Gelişmiş Neubauer Hemositometresinin kullanılmasını önermektedir (WHO, 1987; WHO 1992). Günümüze dek Makler Sayım Kamarası kullanımı genellikle diğer sayım yöntemlerine göre daha hızlı sonuç vermesi ve laboratuvarlardaki rutin hasta akışına engel oluşturmayarak daha basit bir yöntem uygulanması olduğundan tercih edilmektedir (Sukcharoen ve ark., 1994).

Sperm konsantrasyonu (mil/ml), ejakülatın tamamında bulunan toplam sperm sayısı (mil/ejakülat) anlamına gelmemektedir. Sperm konsantrasyon değeri, birim hacimdeki sperm sayısını göstermektedir. Toplam sperm sayısı ejakülat içerisinde hesaplanan sperm konsantrasyonu değeri ile ejakülat hacminin çarpılmasıyla hesaplanmaktadır (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010). DSÖ 2010’da sperm konsantrasyonu için alt sınır değeri 15 mil/ml, semen numunesinin toplam sperm sayısı için alt sınır değeri 39 milyondur (WHO, 2010).

Makler kamarası içerisinde homojen dağılım gösteren karelerin 10 tanesi seçilerek, sayılan tüm sperm hücreleri sperm konsantrasyonunu belirlemektedir (Jequier, 2000). Matson ve ark., 1999 yılında yapmış oldukları Makler kullanımı ile ilgili çalışmasında; Makler içerisine 5-10 µl’lik semen eklenmesinden sonra Makler cam kapağının kapatılmasında gecikme yaşanması durumunun sperm konsantrasyonunun hesaplanmasında hata yarattığını ortaya koymuştur (Matson ve ark., 1999). Makler, 1980’de Maklerin cam kapağının alt kısmının dört temas bölgesine yerleşiminin doğruluğunun, konsantrasyon değerinin doğruluğu ile ilişkili olduğunu söylemiştir (Makler, 1980).

Sperm konsantrasyonu düşük olan semen numunelerinde Makler Sayım Kamarası içerisinde 10 karede görülen sperm hücrelerinden daha fazla sayıda sperm hücresi sayılmasına ihtiyaç duyulduğunda konsantrasyon hesabı;

Sayılan toplam sperm sayısı x 10 / Sayılan kare = Sperm konsantrasyonu (mil/ml) şeklindedir (Biotech, 20 Mart 2018).

Sperm konsantrasyonunun belirlenmesi için tüm hareketli sperm hücreleri daha kolay bir sayım elde etmek için hareketsiz hale getirilebilmektedir. Bunun için homojen hale getirilmiş semen numunesinin 0,5 µl'lik kısmı 56°C'de hazırlanan su banyosuna yerleştirilip 5-10 dakika bekletilebilir. İmmatür hale gelen sperm hücreleri Makler Kamarasına konarak sperm konsantrasyonu belirlenebildiği gösterilmiştir (Makler, 1980; Yanagida ve ark., 1990). Bunun üzerine, Matson ve arkadaşları (1999) semenin serum fizyolojik ile dilüe edilmesinin Makler kullanımında sperm konsantrasyonu belirlemek için hatalı sonuçlar verdiğini göstermiştir (Matson ve ark., 1999). DSÖ 2010'da sperm konsantrasyonunu belirlemek için semen içerisine dilüsyon eklenmesiyle, sperm hücrelerinin ölümü sağlanarak sayımın gerçekleştirilmesi için, Neubauer Hemositometresini önermektedir (WHO, 2010).

Sperm Vitalitesi

Vitalite testi ejakülat içerisinde canlı sperm yüzdesinin belirlenmesi için yapılmaktadır. DSÖ, hareketli sperm yüzdesinin % 40'ın altında olduğu durumlarda vitalite testinin uygulanmasının analiz değerlendirmesi açısından önemli olduğu görüşündedir. Motilite değerlendirmesinde belirlenen immotil sperm yüzdesinin, vitalite değerlendirilmesi sonucunda bulunan ölü sperm yüzdesinden daha az olması, motilite değerlendirilmesinde hata olduğu sonucunu gösterir. Bu yüzden, özellikle % 40'ın altında bulunan hareketlilik sonucunda test uygulaması önemlidir. (WHO, 2010).

Vitalite testi eozin-Y, eozin-Y nigrosin ve hipoosmotik şişme testi ile yapılabilmektedir. Likefiye olan semen numunesinin 30-60 dakika içerisinde değerlendirilmesinin daha doğru sonuçlar verdiği vurgulanmaktadır (Björndahl ve ark., 2010c). Işık mikroskobunun x100'lük objektifi altında immersiyon yağı eklenerek, en az 200 sperm sayılmak üzere, DSÖ 2010'da iki ayrı preparatta değerlendirme yapılması önerilmektedir ayrıca vitalite belirlenmesinde eozin-y

nigrosin boyası kullanılarak çalışılmıştır ve alt sınır değeri % 58 canlı sperm olarak belirlenmiştir (WHO, 2010).

Sperm Morfolojisi

Sperm morfolojisi, rutin semen analizi değerlendirilmesinde aynı zamanda birçok çalışmanın sonucu olarak fertilizasyon kapasitesiyle ilişkilendirilmesinden dolayı önemlidir ve bu durum anormal sperm varlığındaki artışın fertilizasyon kapasitesini düşürdüğü yönündeki görüşlerden kaynaklanmaktadır. Sperm morfoloji değerlendirilmesinde ilk önce normal ve anormal sperm ayırımının yapılması yönünde araştırmalar yapılmıştır. Bunun için Hühner 1921'de anormal sperm varlığının, çok sayıda ileri hızlı hareketli sperm içererek ejakülatlar için fertilizasyon açısından bir önem teşkil etmediği görüşünde bulunsa da; daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalar, başta Cary (1930), MacLeod ve Gold (1951), Kruger ve arkadaşları (1987), Eggert-Kruse ve arkadaşları (1995) olmak üzere birçok araştırmacı servikal mukus yolundaki başarının normal sperm morfolojisi ile ilişkili olduğu ve bu durumun başarılı fertilizasyon ile sonuçlandırılması açısından önemli olduğu fikrinin desteklenmesini sağlamışlardır (MacLeod ve Gold, 1951; Eggert-Kruse ve ark., 1996; Ombelet ve ark., 1995; Coetzee ve ark., 1998; Liu ve Baker, 2003; WHO, 2010; Björndahl ve ark., 2010c). Sperm morfolojisi değerlendirmesine standartlaştırılan kriterler (Kruger ve Menkveld, 1986-1987) eklenmiştir ve bunlar DSÖ 1987 ve 1990'da yayınlanan kitaplara dahil edilmesi sperm morfolojisinin doğru değerlendirilmesi açısından önemli bir adım olmuştur (Ombelet ve ark., 1995).

Morfoloji değerlendirilmesinde hazırlanan yayma preparatlar; likefiye ve iyice karıştırılmış olan semenden 5-10 µl alınarak lam üzerine sürüntü halinde yayılmaktadır (Şekil 2.19). Daha sonra havada kuruması için beklenir ve kullanılmak istenen boyaya uygun şekilde fikse edilmesi sağlanır. Sperm morfolojisi değerlendirilmesinde fikse edilmiş preparatlar için kullanılan Papanicolaou, Shorr gibi boyalar ile Diff-quick ve Spermac (Şekil 2.20) gibi boya kitleri spermin baş, boyun ve kuyruk bölgelerinin ayrımı için farklı renklendirme sağlayan ve kullanımı pratik boyalar oldukları için genellikle bu boyalar tercih edilmektedir. Boyanın kurumasıyla değerlendirmeye geçilebilmekte ya da daha sonra morfoloji

değerlendirilmesinin yapılması istenen lamaların, lamelle entellan yardımıyla kapatılarak saklanması sağlanabilmektedir. Işık mikroskopunun x100 objektifi ile immersiyon yağı altında gözlem yapılabilir (WHO, 2010; Björndahl ve ark., 2010c). DSÖ 2010'da normal ve anormal sperm yüzdelerinin iki preparatta 200'er sperm morfolojisinin gözlemlenmesini önermektedir ve normal sperm yüzdesinin alt sınırı % 4'dür (Kruger ve ark., 1987; WHO, 2010).

Sperm morfoloji değerlendirilmesi için standartlaştırılan kriterler doğrultusunda normal kabul edilen spermelerin (Şekil 2.21), başları; düzgün, oval, 3-5 µm uzunluğunda, 2-3 µm genişliktedir ve başın % 40-70'ini akrozom oluşturmaktadır. Akrozom bölgesi tek ya da iki vakuolden oluşması ve bu vakuolün sperm başının % 20'sinden daha az alan kaplaması normal sperm baş yapısı olarak değerlendirilmektedir. Sperm hücresinin orta kısmı; sperm başının en fazla üçte biri boyutunda, aynı hizada ve incedir. Ana parça; genişliği sabit ve orta kısımdan daha ince ve yaklaşık olarak 45-50 µm'dir (WHO, 2010; Björndahl ve ark., 2010c).

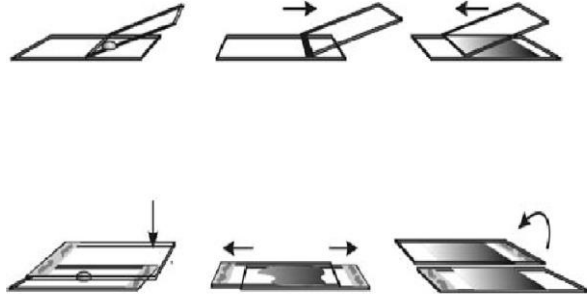
Sperm morfoloji değerlendirmesinde anormal kabul edilen spermeler, çoğunlukla patolojik durumlar ve spermatogenez hatalarıyla ilişkilendirilmektedir. Bu durumlarda genellikle anormallik durumları spermün tüm bölgelerinde bulunmaktadır (Şekil 2.22). Anormal spermelerin çoğunluğu fertilizasyon başarısında düşüş göstermektedir ve bu çoğunlukla baş ile orta parça defektlerinden kaynaklanmaktadır (De Vos ve ark., 2003). Sperm hücresinin morfolojik değerlendirilmesinde, başın; normalden daha büyük ya da daha küçük olması, amorf olması, akrozomun ikiden çok vakuol içermesi, iki adet baş bulunması, başın armut biçiminde olması, boynun; başa doğrusal bağlanmaması, daha kalın ya da daha ince olması, ana parçanın; kısa, kırık, sarmal biçiminde, bükümlü ve geniş olması ya da tüm bu defektlerden birkaçını aynı anda taşıyor olması, anormallik olarak değerlendirilmektedir (WHO, 2010; Björndahl ve ark., 2010c).

Sperm morfoloji belirlenmesinde anormal spermelerin sahip olabilecekleri dört defektin (baş, orta parça, sitoplazmik droplet, ana parça) yansıtıldığı bir gösterge olarak *teratozoospermi indeksi* (TZI) oluşturulmuştur (Mortimer ve Menkveld, 2001). Bu şekilde, normal morfolojiye sahip sperm hücrelerinin ejakülat içerisindeki

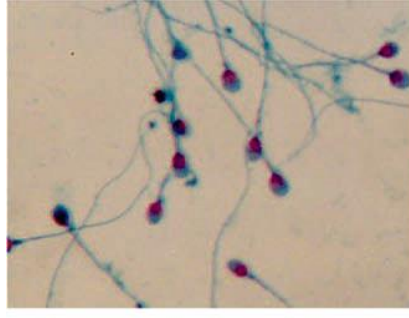
yüzdeleri hesaplanabilmektedir. TZI sonucu her zaman 1 ile 4 arasında bir değerdir ve sınır ≤ 1.60 'dır (WHO, 2010).

TZI hesaplanması; her bir defektin aynı sperm içerisinde görülse dahi tek tek sayılarak belirlenen sayının toplam anomali gösteren sperm sayısına bölünmesiyle belirlenmektedir (WHO, 2010). Örneğin; morfoloji değerlendirmesinde sayılan 200 sperm hücresinin 150'sinde anormal bulunurken 50'sinde normal morfolojiye sahip ise ve bu 150 anormal spermin; 140'ında baş, 90'ında boyun, 20'sinde ana parça ve 24'ünde sitoplazmik droplet görüldüyse $TZI = (140+90+20+24)/150 = 1.82$ olarak bulunur.

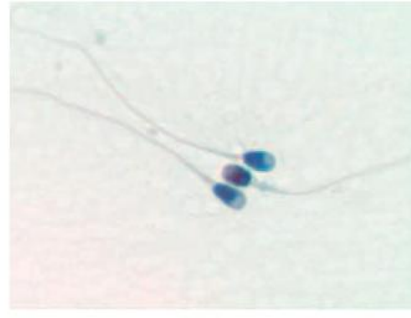
DSÖ 1999'da, TZI için sitoplazmik dropletin orta parçaya dahil edilmeden hesaplaması yapılmıştır, bundan dolayı ESHRE 2002'de bu şekildeki değerlendirmenin TZI için hata oluşturabileceğini ve DSÖ 1992'deki standart protokolün işlenmesini önermiştir. DSÖ 2010'da bu düzenlemeye göre TZI hesaplanmasına yer verilmiştir (Björndahl ve ark., 2002; Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 1992, 1999, 2010).



Şekil 2.19. Yayma preparat hazırlama yöntemi (Björndahl ve ark., 2010c).

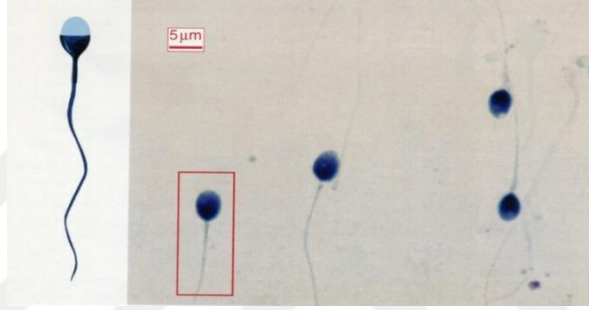


a

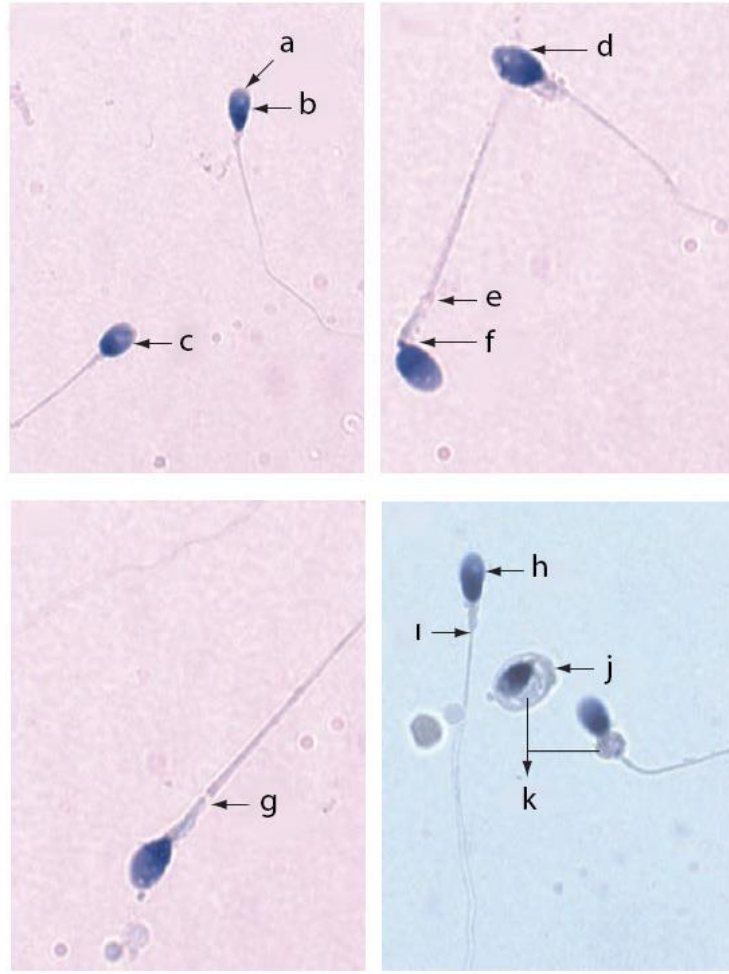


b

Şekil 2.20. Sperm hücrelerinin boyalı görüntüsü a) Papanicolaou boyaması, b) Spermac (Björndahl ve ark., 2010d).



Şekil 2.21. Normal sperm hücresindeki baş ve orta parçanın görünümü (Kruger ve Franken, 2009).



Şekil 2.22. Farklı sperm morfolojileri a) Büyük akrozom, b) Piriform baş, c) Normal, d) Vakuollü baş, e) Kuyruk defekti, f) Boyun defekti, g) Kuyruk defekti, h) Uzunlaşmış baş, i) Başa doğru mitokondri kılıf uzaması, j) Sarmal kuyruk, k) Sitoplazmik droplet (Björndahl ve ark., 2010d).

2.12.4. Normal Semen Örneğinin Özellikleri ve Alt Sınır Değerleri

Semen analizinde; normal sperm hücrelerinin ve ejakülat kalitesinin alt sınır değerlerinin belirlenmiş olması; hastanın semen özelliklerine göre tedavi şeklinin seçilmesinde ve klinik araştırmalara yön göstermesi nedeniyle büyük önem taşımaktadır. DSÖ (2010) laboratuvar el kitabında yayınlanan alt sınır değerleri, 2009’da Cooper ve arkadaşları tarafından; bir yıl içerisinde korunma olmaksızın düzenli bir cinsel yaşamları olan ve bunun sonucunda gebelik durumunun gözlemlendiği fertil erkek popülasyonundaki bireylerin semen özelliklerinin geriye dönük çalışılmasıyla belirlenmiştir (WHO, 2010).

Tablo 2.4. WHO 2010'da yer alan, normal semen örneğinin özellikleri ve alt sınır değerleri (% 95 güven aralığında).

Parametreler	Alt Sınır
Semen hacmi (ml)	1.5
Toplam sperm sayısı (10^6 /ejakülat)	39
Sperm konsantrasyon %'si (10^6 / ml)	15
Toplam hareketlilik %'si (a+b+c)	40
İleri motilite %'si (a)	32
Vitalite %'si (canlı)	58
Sperm morfoloji %'si (normal)	4
pH	≥ 7.2
Lökosit %'si (10^6 / ml)	< 1
MAR testi %'si	< 50
İmmunobead test %'si	< 50
Seminal çinko (μmol / ejakülat)	≥ 2.4
Seminal früktoz (μmol / ejakülat)	≥ 13
Seminal nötral glikozidaz (mU/ ejakülat)	≥ 20

2.12.5. Semen Analizi Terminolojisi

DSÖ 2010'da semen özelliklerinin alt sınır değerleri göz önünde bulunarak, semen analizi terminolojileri oluşturulmuştur (WHO, 2010).

Tablo 2.5. WHO 2010'da yer alan semen analizi terminolojisi.

Aspermi	Semenin olmaması durumu
Azoospermi	Ejakülat (semen) içerisinde hiç sperm hücresi görülmemesi
Nekrozoospermi	Ejakülat içerisinde yüksek oranda cansız sperm, düşük oranda canlı sperm görülmesi
Kriptoospermi	Semenin ilk görüntüsünde sperm hücresi gözlenmeyip santrifüj yapılması ile sonrasında oluşan pellette sperm hücresinin görülmesi
Normozoospermi	Semenin DSÖ alt limitlerinde veya daha yüksek oranda özelliklere sahip olması
Astenoospermi	İleri motil sperm yüzdesinin belirlenmiş alt limit değerlerinin altında olması
Oligoospermi	Sperm konsantrasyonunun belirlenmiş alt limit değerinin altında olması
Teratoospermi	Normal morfolojiye sahip sperm yüzdesinin belirlenmiş alt limit değerinin altında olması
Oligoastenoospermi	Toplam sperm sayısı ve ileri motil sperm yüzdesinin belirlenmiş alt limit değerlerinin altında olması
Oligoastenoteratoospermi	Toplam sperm sayısı, ileri motil sperm ve normal morfolojiye sahip sperm hücrelerinin yüzdesinin belirlenmiş alt limit değerlerinden düşük olması
Oligoteratoospermi	Toplam sperm sayısı ve normal morfolojiye sahip sperm yüzdesinin belirlenmiş alt limit değerlerinin altında olması
Astenoteratoospermi	İleri motil sperm ve normal morfolojiye sahip sperm yüzdesinin belirlenmiş alt limit değerlerinden düşük olması
Hemospermi	Semen içerisinde eritrositlerin görülmesi
Lökospermi	Semen içerisinde alt limit değerinden fazla lökosit görülmesi

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hasta Seçimi

Çalışma Ekim 2016 – Mart 2017 tarihleri arasında erkek infertilitesi ya da erkek üreme sistemi rahatsızlıklarından dolayı, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum Polikliniğinden ya da Üroloji Polikliniğinden yönlendirilen ve semen analizi testi için Androloji Laboratuvarına gelen; çalışma hakkında detaylı bilgilendirmeler üzerine katılımı gönüllü olarak sağlanan, yaşları 20 ile 48 arasında değişen 100 hastanın, normalde semen analizi testi için uygulanan tüm işlemlerin yapılması ve ayrıntılı raporun hazırlanması sonunda tıbbi atık olarak laboratuvar ortamından uzaklaştırılan hastanın kalan semen numuneleri üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmamız Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 19.10.2016 tarih 2016/105 nolu izni ile gerçekleştirildi (bkz. EK-2). Bilgilendirilmiş gönüllü olur formu ile izinleri alınan hastalar çalışmaya dahil edildi (bkz. EK-3).

3.2. Semen Numunelerinin Eldesi

Androloji Laboratuvarına başvuran ve cinsel perhiz süresi 2-7 günlük olan hastalara; isim ve soyisimlerinin yazıldığı ve boş olarak ağırlıkları belirlenen steril kaplar verildi. Hastalar laboratuvar ortamında numune vermeleri için özel olarak ayrılan odaya yönlendirildi ve numune toplama işlemi ile ilgili hastaya dikkat etmesi gereken noktalar anlatıldı. Hastalar numuneleri mastürbasyon yoluyla verdikten sonra ağzı kapalı olarak laboratuvara teslim ettiler. Laboratuvara getirilen numune kutusu tartıldı. Boş kabın ağırlığı ile semen içeren kabın ağırlığı arasındaki fark, semen içeren kabın ağırlığından boş kabın ağırlığı çıkartılarak semen hacmi hesaplandı. Semen likefaksiyonunun sağlanması için 37°C'lik inkübatöre kaldırıldı. Semen analizi için gerekli olan makroskopik ve mikroskopik incelemeler

gerçekleştirildi ve hasta raporu hazırlandı. Hasta raporu hazırlandıktan sonra laboratuvar ortamından uzaklaştırılacak semen numunesi üzerinde çalışma başlatıldı.

3.3. Semen Analizi Testinde Uygulanan İşlemler

Likefaksiyon süreleri her hasta için ortalama 20 dakika içerisinde gerçekleşti. Likefiye olan semen numunelerinde her hastaya semen analizi testi için makroskopik değerlendirme yapıldı; bunun için ilk olarak likefaksiyon süresi, semenin kokusu ve görüntüsü, semenin hacmi ve viskozitesi belirlendi. Makroskopik incelemeler gerçekleştirildikten sonra mikroskopik incelemelere geçildi. Tüm işlemler DSÖ 2010'daki kriterleri doğrultusunda gerçekleştirildi. Mikroskopik incelemede sperm konsantrasyonu ve toplam sperm sayısı Makler Sayım Kamarası kullanılarak faz-kontrast mikroskopunun x20 objektifi altında, yaklaşık 10 saniyelik bir video kaydı oluşturmak için ızgaranın 35 karesini alan görüntüsü ekrana yansıtılarak kaydedildi. Sperm hücrelerinin sayımı gerçekleştirildiğinde toplam sperm sayısı $\times 10 / 35$ şeklinde hesaplanarak sperm konsantrasyonu (mil/ml) belirlendi. Sperm motilite işlemi ve sperm aglütinasyonu ya da agregasyonu belirlenmesi için lam-lamel arası Islak Preparat hazırlandı. Sperm konsantrasyonu 20 mil/ml'den az olan semen numuneleri için semenin tümü alınarak 1000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek oluşan pellet kendi içerisinde çözülmesi sağlandı ve sayım işlemleri sonucunda hareketliliğin ≤ 40 'ın altında belirlenen semen numunelerine vitalite testi için ve her hasta numunesinin morfolojik değerlendirilmesi için yayma preparatları bu numunedan yapıldı ve boyama işlemleri vitalite için Eozin-Y Nigrosin, morfoloji için Diff-Quik kullanılarak hazırlandı. Daha sonra morfoloji ve vitalite değerlendirmeleri ışık mikroskopunun x100'lük objektifi altında immersiyon yağı ile gerçekleştirildi. Her hasta için; semen görünümü, viskozitesi, hacmi ve likefaksiyon sürelerinin içerdiği makroskopik değerlendirme sonucu ile sperm konsantrasyonu, motilitesi, toplam sperm sayısı, kruger değerlendirmesi ve TZI değerlerini içeren mikroskopik değerlendirme sonuçları ile Makler Sayım Kamarası ve lam lamel arası Islak Preparat hazırlama arasında geçen süreler rapor halinde hazırlandı.

3.4. Sperm Motilite Değerlendirmesi

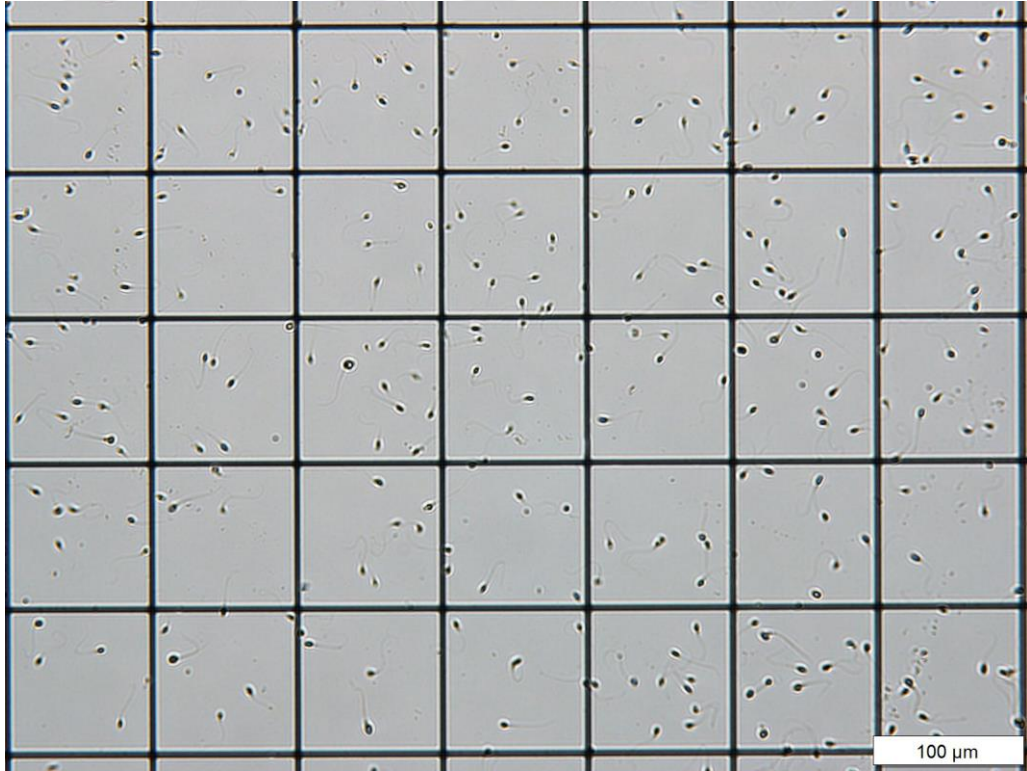
3.4.1. Makler Sayım Kamarası ile Motilite Belirleme

10 x 10 kare içeren 10 µl'lik derinliğe sahip Makler Sayım Kamarası cam kapak ve ızgara kısmından oluşmaktadır; bu iki kısım arasında dört temas bölgesi bulunmaktadır. Likefiye olan semen numunesi homojen bir dağılım içermesi için biraz karıştırılır ve her hangi bir dilüsyon maddesi eklenmeden 5 µl bir pipet aracılığıyla alınarak Makler zerine damlatılır ve cam kapağı dört temas bölgesine düzgün bir şekilde yerleştirilerek kapatılmaktadır. Faz-kontrast mikroskobunun x20'lik objektifi altında sayılır. 10 kare içerisinde sayılan toplam spermiler; motilite yüzdelerini ve sperm konsantrasyonunu (mil/ml) belirlemektedir. Semen içerisindeki sperm motilitesi için tüm hareket çeşitlerinin yüzdelik değerleri belirlenebilmektedir. Örneğin a hareketi için; Toplam sperm sayısı / a hareketi x 100 = a hareket yüzdesi şeklinde'dir. 10 kareden daha fazla kare sayılarak hareketlilik belirlenmek istenirse sayılan toplam hareketlilik x 10 / sayılan kare = hareketlilik yüzdesini vermektedir örneğin a hareketi için; Toplam a hareketi içeren spermilerin sayısı x 10 / sayılan kare = a hareket yüzdesi şeklinde belirlenebilmektedir.

Makler sayım kamarasında hareketlilik yüzdelerinin belirlenmesi için uygulanan işlemler;

- Sperm konsantrasyonu 20 mil/ml'den az olan semen numuneleri için semenin tümü alınarak 1000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek oluşan pellet kendi içerisinde çözülmesi sağlandı ve hareketlilik için bu numune kullanıldı.
- 37°C'lik inkübatör içerisinde duran Makler Sayım Kamarası ve semen numunesi alındı ve likefiye olan semen numunesi dikkatlice bir pipet yardımıyla karıştırılarak, içerisinden 5 µl'lik semen mikropipet ile alınarak içerisine yerleştirildi; cam kapağı dört temas bölgesine temas edecek şekilde, herhangi bir hava kabarcığı oluşturulmadan kapatıldı.
- Faz-kontrast mikroskobunun x20'lik objektifi altında yaklaşık 10 saniyelik bir video kaydı oluşturmak için ızgaranın toplam 35 karesini içeri alan görüntüsü ekrana yansıtılarak kaydedildi.

- 35 kare içerisinde tüm sperm hareketlilik derecelerine göre ayrılarak sayıldı.
- Karenin kenarlarına nüfus eden sperm başı ve sperm kuyrukları sayıma dahil edildi ancak bir sperm hücresinin tekrar sayımını engellemek amacıyla karenin sağ yan ve alt bölgesi kare içerisine dahil edilerek sol yan ve üst bölgesi o kare içerisine dahil edilmedi. Bu şekilde diğer komşu kareye dahil edilerek toplam 35 kare içerisinde bulunan tüm sperm sayıldı (Şekil 3.1).
- Sperm hareketliliği;
 Toplam a sperm sayısı x 10 / 35 = a hareket sayısı
 Toplam b sperm sayısı x 10 / 35 = b hareket sayısı
 Toplam c sperm sayısı x 10 / 35 = c hareket sayısı
 Toplam d sperm sayısı x 10 / 35 = d hareket sayısı şeklinde belirlendi.
- Makler Sayım Kamarası ile sayım gerçekleştirildikten sonra diğer hasta numunesine geçilmeden önce Makler su ve alkol ile iyice temizlendi ve mikroskop altında temizliği kontrol edilerek inkübatöre kaldırıldı.

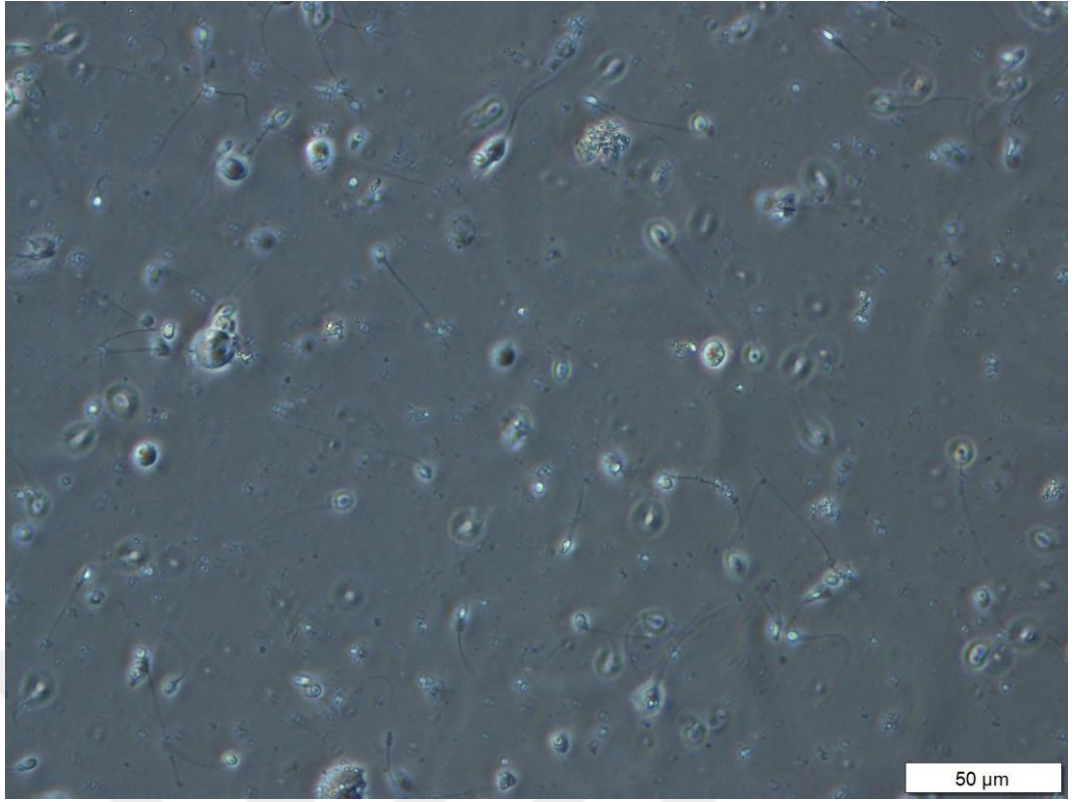


Şekil 3.1. Makler Sayım Kamarası ile sperm hücrelerinin görünümü.

3.4.2. Islak Preparat ile Motilite Belirleme

Islak Preparat ile hareketlilik yüzdelerinin belirlenmesi şu şekilde gerçekleştirildi;

- Makler Sayım Kamarası ile belirlenen sperm konsantrasyonunun 20 mil/ml'den az olan semen numuneleri için semenin tümü alınarak 1000 x g'de 10 dakika santrifüj edilerek oluşan pelletin kendi içerisinde çözülmesi sağlandı ve hareketlilik için bu numune kullanıldı.
- Likefiye olmuş olan semen örneği bir pipet yardımıyla iyice karıştırıldı.
- Örnek içerisinden alınan 10 µl semen lamın ortasına damlatıldı. Lamın üzerine 22 mm x 22 mm boyutlarındaki lamel kapatıldı. Bu sayede örneğin derinliği 20.7 µm olması sağlandı. Bu derinlik sperm hücrelerinin rahatlıkla hareket etmesine izin veren bir derinlikti. İşlem için 37°C'de inkübatörde bekletilen temiz lam ve lameller kullanıldı. Lam üzerine lamel kapatılması sırasında hava kabarcığı oluştuğunda bu lamlar sayım için kullanılmadı, yeni lam hazırlandı.
- Lam, semen hareketliliğinin sonlanması için 1 dakika bekletildi. Sürenin sonunda lam faz-kontrast mikroskobuna yerleştirildi. Semen lamel kenarlarından sızması nedeniyle semen hareketliliğinin devam ettiğinin gözlenmesi durumunda bu lamlar inceleme için kullanılmadı, yeni lam hazırlandı.
- Faz-kontrast mikroskobunun x40'lık objektifi kullanılarak lamın en az dört farklı bölgesindeki en az 200 sperm hücresi incelendi ve hareket tipleri a, b, c ve d olarak kayıt edildi.
- Dört alan içerisinde 200 sperm hücresinden daha az sperm bulunan semen numunelerinde en az 200 sperm hücre hareketi belirlenene kadar alan sayısı artırıldı.
- Aynı biçimde ikinci bir lam hazırlandı ve sperm hareketliliği belirlendi. DSÖ 2010'daki sayımlar arasındaki kullanılabilir farklılık doğrultusunda sonuçlar değerlendirildi. Farklılığın kullanılabilir olmaması durumunda işlemler tekrarlandı. Kullanılabilir olması durumunda 2 lamdan elde edilen sayıların ortalaması alındı.



Şekil 3.2. Islak Preparat ile hazırlanan sperm hücrelerinin görünümü.

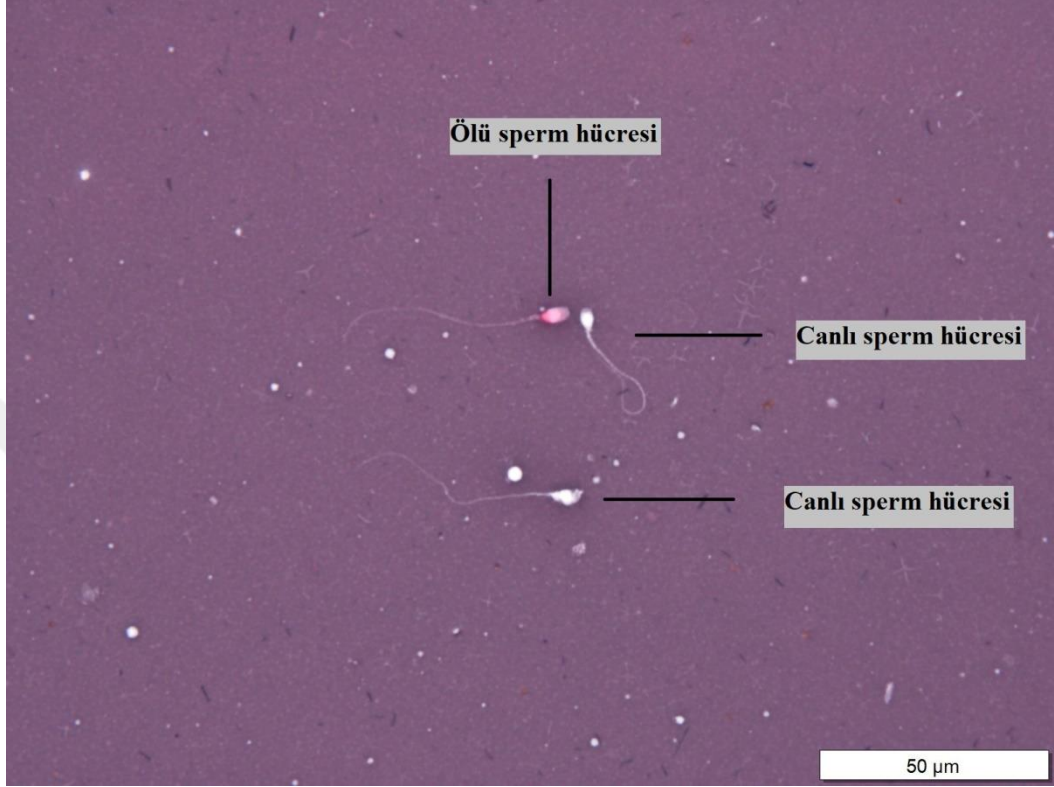
3.5. Vitalite

Eozin-Y Nigrosin uygulaması;

Kullanılacak reaktifin hazırlanışı; 100 ml distile su içerisine 0.90 gr sodyum klorür ve 0.67 gr eozin-y eklenerek yavaşça eritildi, nigrosin boyasından 10.0 gr eklenerek kaynamaya ulaşıldıktan sonra soğumaya bırakıldı. Kullanılacağı zaman boyanın oda sıcaklığında olması gereklidir ve kullanılmayacağı zamanlarda kapalı bir cam içerisinde bekletilmelidir (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).

Hazırlanan boyadan bir pipet yardımıyla 50 µl ve semenden 50 µl alınarak 30 saniye boyunca karıştırıldı. Lam üzerine, karışımdan 12-15 µl alınarak bir damla şeklinde bırakıldı ve başka bir lam yardımıyla yayıldı. Gözlem hemen yapılabilmekte ya da kullanılan lam üzeri entellan aracılığıyla lamelle kapatılarak daha sonra gözlem yapılmak üzere saklanması sağlanabilir. Eozin-Y boyası, hasar gören ölü sperm hücrelerine nüfus ederek kırmızı ya da pembe görünmelerine yol açar. Canlı sperm

hücreleri eozin-y alımını engelleyen hücre duvarı sayesinde boyayı almaz ve beyaz görünür. Nigrosin lam üzerinde arka planı boyayarak canlı ve ölü spermilerin ayırt edilmesini kolaylaştırır (Şekil 3.3) (Björndahl ve ark., 2010c; WHO, 2010).



Şekil 3.3. Eozin-Y Nigrosin boyaması ile sperm hücrelerinin görünümü.

Tablo 3.1. WHO 2010’da belirlenen toplam sperm sayısı için iki tekrar arasındaki kullanılabilir farklılıklar.

Toplam Sperm Sayısı	Kullanılabilir Farklılık
144-156	24
157-169	25
170-182	26
183-196	27
197-211	28
212-226	29
227-242	30
243-258	31
259-274	32
275-292	33
293-309	34
310-328	35
329-346	36
347-366	37
367-385	38
386-406	39
407-426	40
427-448	41
449-470	42
471-492	43
493-515	44
516-538	45
539-562	46
563-587	47

3.6. Değerlendirme ve İstatistiksel Analiz

Sperm hareketliliğinin belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat ile elde edilen sonuçların tutarlılık düzeyleri SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 24.0 istatistik paket programı kullanılarak incelendi. Bland-Altman analizi ile Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemleri ile elde edilen sonuçların arasındaki uyum analiz edildi. Bland-Altman analizi ile karşılaştırmalı veri analizi hesaplamaları grafik çizilerek gerçekleştirildi. Anlamlılık düzeyi (α) $p>0,05$ normal olarak kabul edildi ve bu analiz için Shapiro-Wilk testinden yararlanıldı.



4. BULGULAR

4.1. Semen Analizi Bulguları

Bu çalışmaya, Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Androloji Laboratuvarına rutin semen analizi (spermiyogram) testi için başvuran ve gönüllü olan 100 hasta dahil edildi. Hastaların rutin semen analizi incelemesinde bulunan; yaş, cinsel perhiz süresi, hacim, sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, normal morfolojiye sahip sperm yüzdesi, teratozoospermi indeksi Tablo 4.1’de, Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparattan elde edilen sperm hareketliliklerine ait parametreler Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen hastaların yaşları 20-48 arasındaydı ve yaş ortalamaları 30.69 (± 5.19) idi. Hastaların cinsel perhiz süreleri 3-7 gün arasında ve ortalama 4.08 (± 1.01) gün, semen hacimleri ise 0.5-9.6 ml arasında ve ortalama 3.66 (± 1.52) ml olarak bulundu. Sperm konsantrasyonları ve toplam sperm sayıları incelendiğinde; sperm konsantrasyonlarının 0.4-668 milyon/ml arasında ve ortalama 76.6 (± 85.8) milyon/ml olduğu, toplam sperm sayısının ise 2.88-1736.8 milyon adet arasında ve sperm sayısı ortalama 264.7 (± 285.6) milyon adet olarak bulundu.

Sperm motilitesi (hareketliliği) Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi ile ayrı ayrı belirlendi ve sperm motilitesi; a (ileri hızlı hareket eden), b (ileri hareket eden), c (yerinde hareketli) ve d (hareket etmeyen) tipi hareket olmak üzere dört tipte kategorize edilerek ve yüzde olarak değerleri hesaplanarak karşılaştırmalar yapıldı. Makler Sayım Kamarası kullanılarak elde edilen motilite değerleri; a tipi harekete sahip sperm yüzdesi 0-57 arasında ve ortalama 17.15 (± 11.5), b tipi harekete sahip sperm yüzdesi 0-55 arasında ve ortalama 25.24 (± 11.5), c tipi harekete sahip sperm yüzdesi 0-28 arasında ve ortalama 8.39 (± 4.76), d tipi harekete sahip sperm yüzdesi 12-88 arasında ve ortalama 49.22 (± 19.1) şeklinde bulundu. Makler Sayım Kamarası kullanılarak elde edilen hareketli sperm (a+b+c) yüzdesi 12-88 arasında değişmekte olup ortalama 50.68 (± 19.1) olarak bulundu. Islak Preparat

kullanılarak elde edilen motilite değerleri; a tipi harekete sahip sperm yüzdesi 0-53 arasında ve ortalama 14.54 (± 8.89), b tipi harekete sahip sperm yüzdesi 0-61 arasında ve ortalama 34.82 (± 12.31), c tipi harekete sahip sperm yüzdesi 3-21 arasında ve ortalama 8.47 (± 3.37), d tipi harekete sahip sperm yüzdesi 18-85 arasında ve ortalama 42.18 (± 15.59) şeklinde bulundu. Islak Preparat kullanılarak elde edilen hareketli sperm yüzdesi 15-82 arasında değişmekte olup ortalama 57.8 (± 15.59) olarak bulundu. Makler Sayım Kamarası ile sperm motilitesi belirlendikten sonra Islak Preparat ile sperm motilitesi belirlendi. Değerlendirmeler arasında geçen süre 15-45 dakika arasında ve ortalama 25.95 (± 5.80) dakika olarak hesaplandı. Sperm morfolojisi için kullanılan Diff-Quik boyaması sonucu Kruger kriterlerine göre; normal morfolojiye sahip sperm yüzdesi 0-28 arasında değişmekte olup ortalama 9.09 (± 6.19) olarak, teratozoospermi indeksi (TZI) 1.21- 1.93 arasında değişmekte olup ortalama 1.50 (± 0.146) olarak belirlendi.

Tablo 4.1. Hastaların bazı semen parametreleri.

Parametreler	N	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Yaş (yıl)	100	30.69	5.19	20	48
Cinsel Perhiz Süresi (3-7 gün)	100	4.08	1.01	3	7
Hacim (ml)	100	3.66	1.52	0.5	9.6
Sperm Konsantrasyonu (milyon/ml)	100	76.6	85.8	0.4	668
Toplam Sperm Sayısı (milyon)	100	264.7	285.6	2.88	1736.8
Normal Morfolojideki Sperm (%)	100	9.09	6.19	0	28
Teratozoospermi indeksi (TZI)	100	1.50	0.146	1.21	1.93

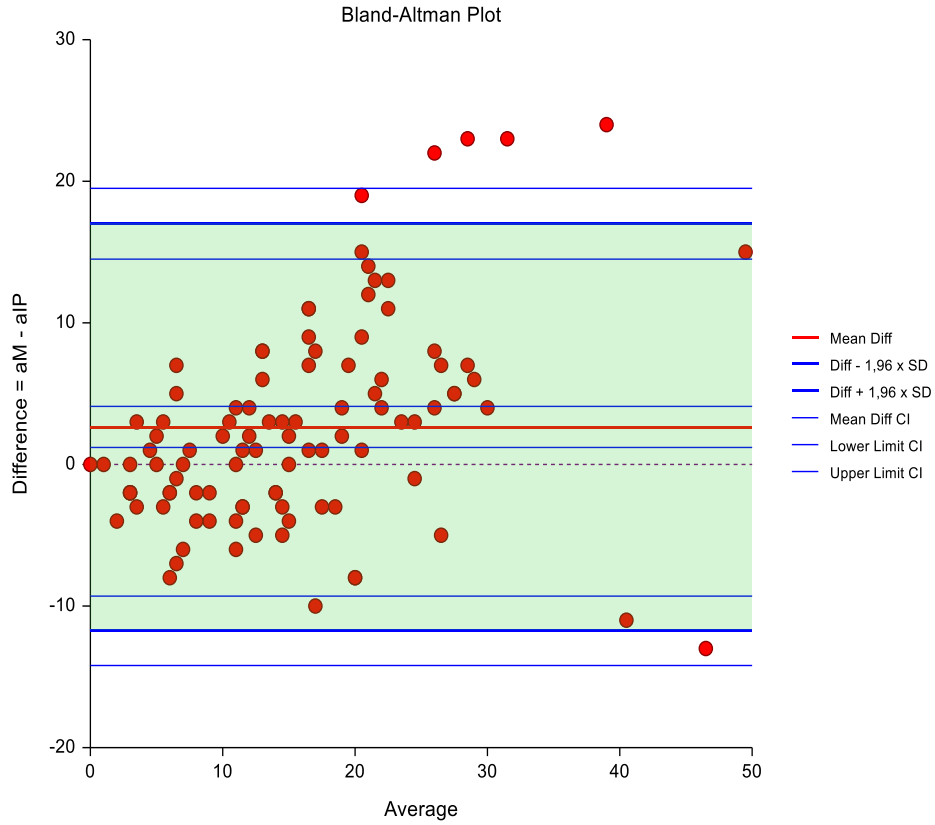
Tablo 4.2. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat ile belirlenen sperm hareketliliği.

Parametreler	N	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maksimum
Makler Kamarası ile a tipi sperm (%) oranı	100	17.15	11.5	0	57
Makler Kamarası ile b tipi sperm (%) oranı	100	25.24	11.5	0	55
Makler Kamarası ile c tipi sperm (%) oranı	100	8.39	4.76	0	28
Makler Kamarası ile d tipi sperm (%) oranı	100	49.22	19,1	12	88
Makler Kamarası ile hareketli sperm (% , a+b+c) oranı	100	50.68	19.1	12	88
Islak Preparat ile a tipi sperm (%) oranı	100	14.54	8.89	0	53
Islak Preparat ile b tipi sperm (%) oranı	100	34.82	12.31	0	61
Islak Preparat ile c tipi sperm (%) oranı	100	8.47	3.37	3	21
Islak Preparat ile d tipi sperm (%) oranı	100	42.18	15.59	18	85
Islak Preparat ile hareketli sperm (% , a+b+c) oranı	100	57.8	15.59	15	82
Makler Kamarası ve Islak Preparat sayımı arasında geçen zaman (dakika)	100	25.95	5.80	15	45

4.2. a Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

100 hastanın motilite (hareketlilik) ölçümleri ile öncelikle Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemindeki değerler aralarındaki ilişkisinin derecelerinin anlaşılması amacı ile korelasyon katsayısı (r ; -1.0 ve +1.0 arasında) bulundu. Sperm hareketliliğinde a (ileri hızlı hareket) tipi sperm hücresi için korelasyon katsayısı 0.77 olarak bulundu ($r=0.77$) ve bu durum iki yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif yüksek derecede korelasyon olduğu şeklinde yorumlandı.

İki yöntemin karşılaştırılmasında, iki farklı yöntemden elde edilen ölçüm değerlerinin ortalamalarına ilişkin farkların saçılım grafiğinin çizilmesi için Bland-Altman istatistiksel analiz yöntemi uygulandı. Bland-Altman analizi ile belirlenen saçılım grafiğinde; ölçüm hataları, gerçek değerler arasındaki herhangi bir ilişkinin ve hatanın incelenmesine olanak sağlarken aynı zamanda; ortalamalara karşı farkların saçılımı ile iki yöntem arasındaki uyum farkları ortalaması (d -) ve standart sapma (s) kullanılarak değerlendirildi. Saçılım grafiğinin sıfırın etrafında rastgele dağılması ve $d \pm 1.96s$ uyum sınırı olarak kabul edilerek % 95'inin bu uyum sınırı arasında olması saçılımın normal dağılıma sahip olduğunu gösterdi. Şekil 4.1'deki saçılım grafiği; x eksenini a tipi sperm hücresinin Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi arasındaki ölçümleri ortalamasını, y eksenini ise aralarındaki farkları gösterdi. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi ile belirlenen a tipi sperm hücresinin değerleri karşılaştırıldığında; iki yöntemin aralarındaki uyum farklarının ortalaması yani $d=2.61$, standart sapması yani $s=7.32$ olarak bulundu. Güven aralığında % 95'i için; 1.15 ile 4.06 arasında bulundu. Makler Sayım Kamarası a (ileri hızlı hareket) tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen a tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 2.61 daha yüksek bulunduğu belirlendi (Tablo 4.3).

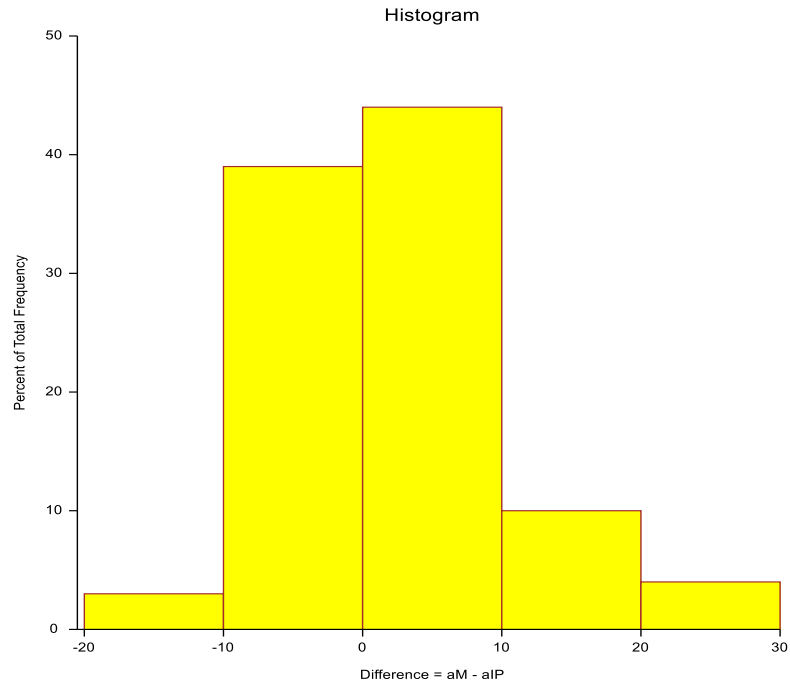


Şekil 4.1. a tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yönteminde belirlenen ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

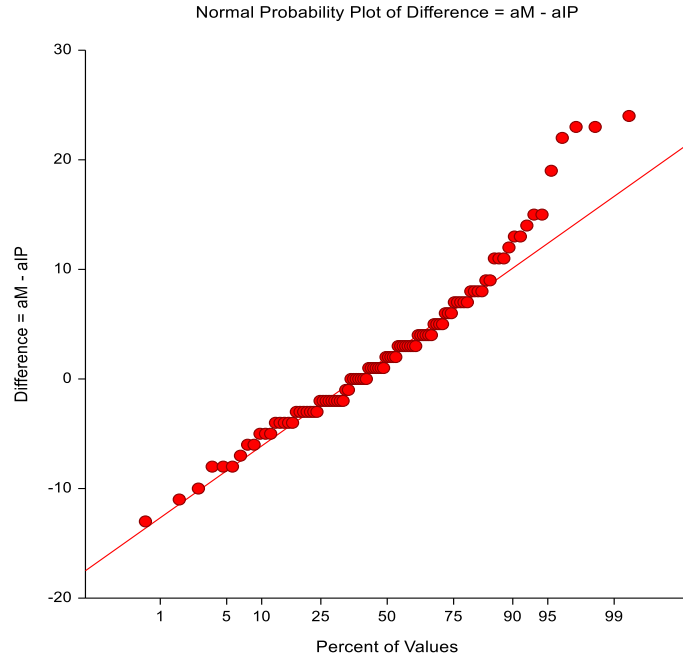
Tablo 4.3. a tipi sperm hücresi için iki yöntem arasındaki tanımlayıcı değerler. (*=çarpma işlemi, *=ortalama fark, **=standart sapma)

Metot	n	Ortalama (d)	Standart Sapma (ss)	% 95 güven aralığı (d±1.96*ss)
a Tipi Sperm Yüzdesi Makler Sayım Kamarası	100	17.15	11.57	14.85 – 19.44
a Tipi Sperm Yüzdesi Islak Preparat	100	14.54	8.89	12.77 – 16.30
Ortalama Fark	100	2.61*	7.32**	1.15 – 4.06

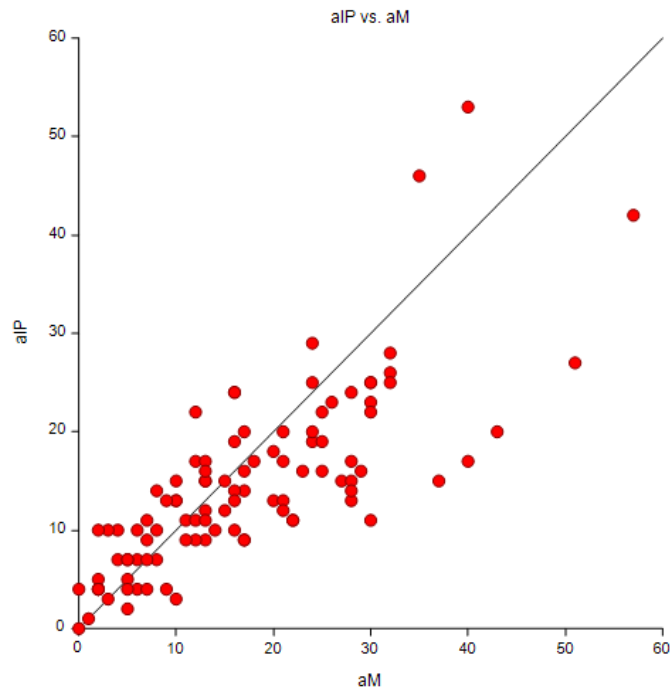
Parametrik olmayan normallik varsayımını sınavan en güçlü testlerden olan Shapiro-Wilk testi ile normallik varsayımını histogram şeklinde farkların dağılımının doğruluğunu belirlemek için kullanıldı. Shapiro-Wilk ile $p < 0.05$ ise normal dağılımda olmadığı ve hipotezin kabul edilmediğini, $p > 0.05$ ise normal dağılımda olduğu ve hipotezin kabul edildiğini gösterir. Shapiro-Wilk ile bulunan $p = 0.0013$ sonucu ile normal dağılımda bulunmadığı şeklinde bir sonuca varıldı (Şekil 4.2, 4.3, 4.4).



Şekil 4.2. a tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.3. a tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına dair fark grafiği.

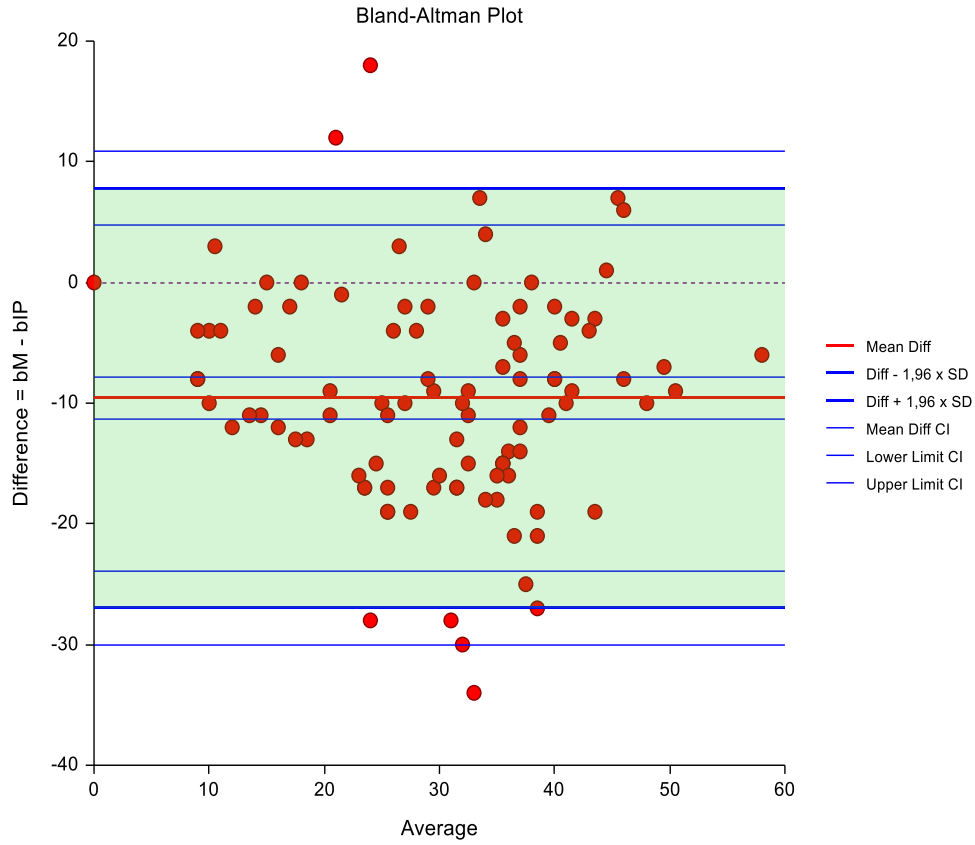


Şekil 4.4. a tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ortalama değerler grafiği.

4.3. b Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

100 hastanın hareketlilik ölçümleri ile öncelikle Makler Sayım Kamarası ile Islak Preparat yöntemindeki değerlerinin aralarındaki ilişkisinin derecelerinin anlaşılması amacı ile korelasyon katsayısı (r ; -1.0 ve +1.0 arasında) bulundu. Sperm hareketliliğinde b (ileri hareketli) tipi sperm hücresi için korelasyon katsayısı 0.725 olarak bulundu ($r=0.725$) ve bu durum iki yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif yüksek derecede korelasyon olduğu şeklinde yorumlandı.

İki yöntemin karşılaştırılmasında, iki farklı yöntemden elde edilen ölçüm değerlerinin ortalamalarına ilişkin farkların saçılım grafiğinin çizilmesi için Bland-Altman istatistiksel analiz yöntemi uygulandı. Bland-Altman analizi ile belirlenen saçılım grafiğinde; ölçüm hataları, gerçek değerler arasındaki herhangi bir ilişkinin ve hatanın incelenmesine olanak sağlarken aynı zamanda; ortalamalara karşı farkların saçılımı ile iki yöntem arasındaki uyum farkları ortalaması (d -) ve standart sapma (s) kullanılarak değerlendirildi. Saçılım grafiğinin sıfırın etrafında rastgele dağılması ve $d \pm 1.96s$ uyum sınırı olarak kabul edilerek % 95'inin bu uyum sınırı arasında olması saçılımın normal dağılıma sahip olduğunu gösterdi. Şekil 4.5'deki saçılım grafiğinde; x eksenini b tipi sperm hücresinin Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi arasındaki ölçümleri ortalamasını, y eksenini ise aralarındaki farkları gösterdi. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi ile belirlenen b tipi sperm hücresinin değerleri karşılaştırıldığında; iki yöntemin aralarındaki uyum farklarının ortalaması yani $d=-9.58$, standart sapması yani $s=8.87$ olarak bulundu. Güven aralığı % 95'i için; -11.34 ile -7.81 arasında bulundu. Makler Sayım Kamarası b (ileri hareket) tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen b tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 9.58 daha düşük bulunduğu belirlendi (Tablo 4.4).

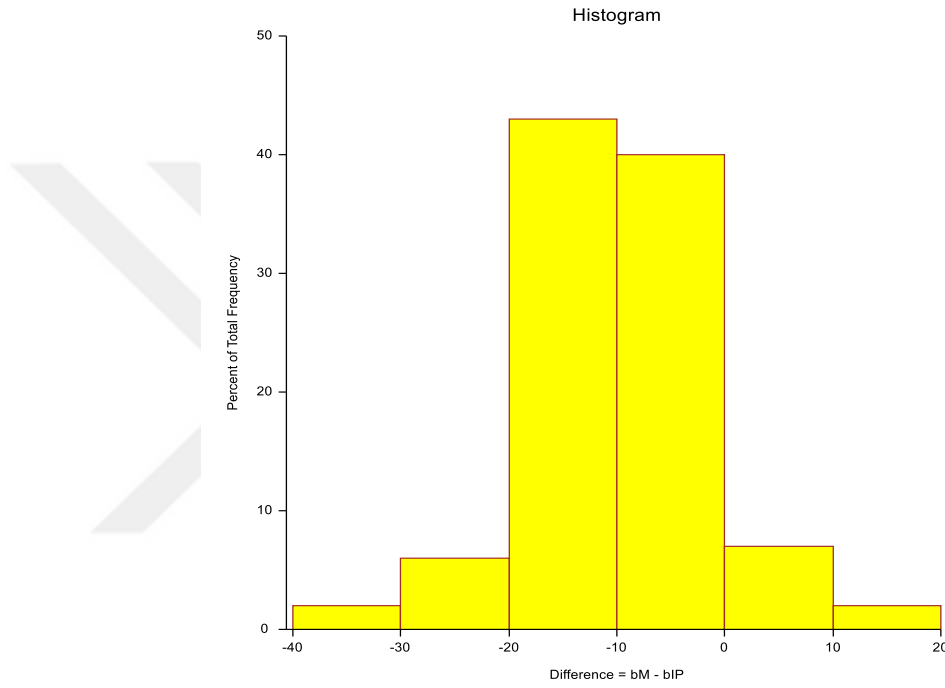


Şekil 4.5. b tipi sperm hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yönteminde belirlenen ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

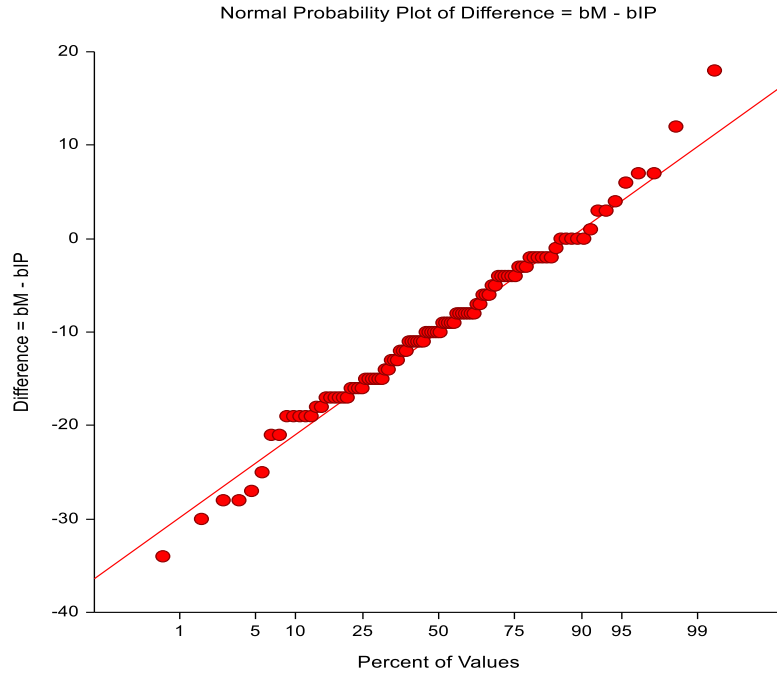
Tablo 4.4. b tipi sperm hücresi için iki yöntem arasındaki tanımlayıcı değerler. (*=çarpma işlemi, *=ortalama fark, **=standart sapma)

Metot	n	Ortalama (d)	Standart Sapma (ss)	% 95 güven aralığı (d±1.96*ss)
b Tipi Sperm Yüzdesi Makler Sayım Kamarası	100	25.24	11.55	22.94 – 27.53
b Tipi Sperm Yüzdesi Islak Preparat	100	34.82	12.31	32.37 – 37.26
Ortalama Fark	100	-9.58*	8.87**	-11.34 – 7.81

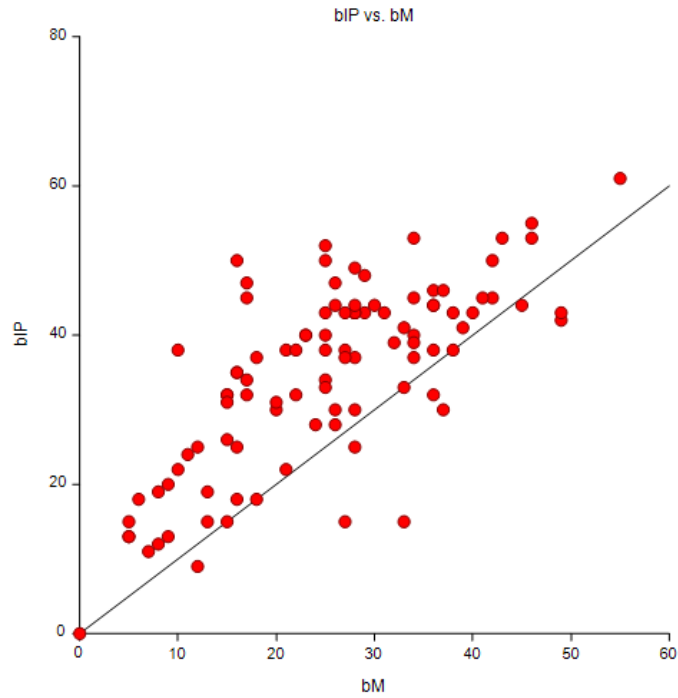
Parametrik olmayan normallik varsayımını sınavan en güçlü testlerden olan Shapiro-Wilk testi ile normallik varsayımını histogram şeklinde farkların dağılımının doğruluğunu belirlemek için kullanıldı. Shapiro-Wilk ile $p < 0.05$ ise normal dağılımda olmadığı ve hipotezin kabul edilmediğini, $p > 0.05$ ise normal dağılımda olduğu ve hipotezin kabul edildiğini gösterir. Shapiro-Wilk ile bulunan $p = 0.5209$ sonucu ile normal dağılımda bulunduğu ve anlamlı bir fark olmadığı şeklinde bir sonuca varıldı (Şekil 4.6, 4.7, 4.8).



Şekil 4.6. b tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.7. b tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına dair fark grafiği.

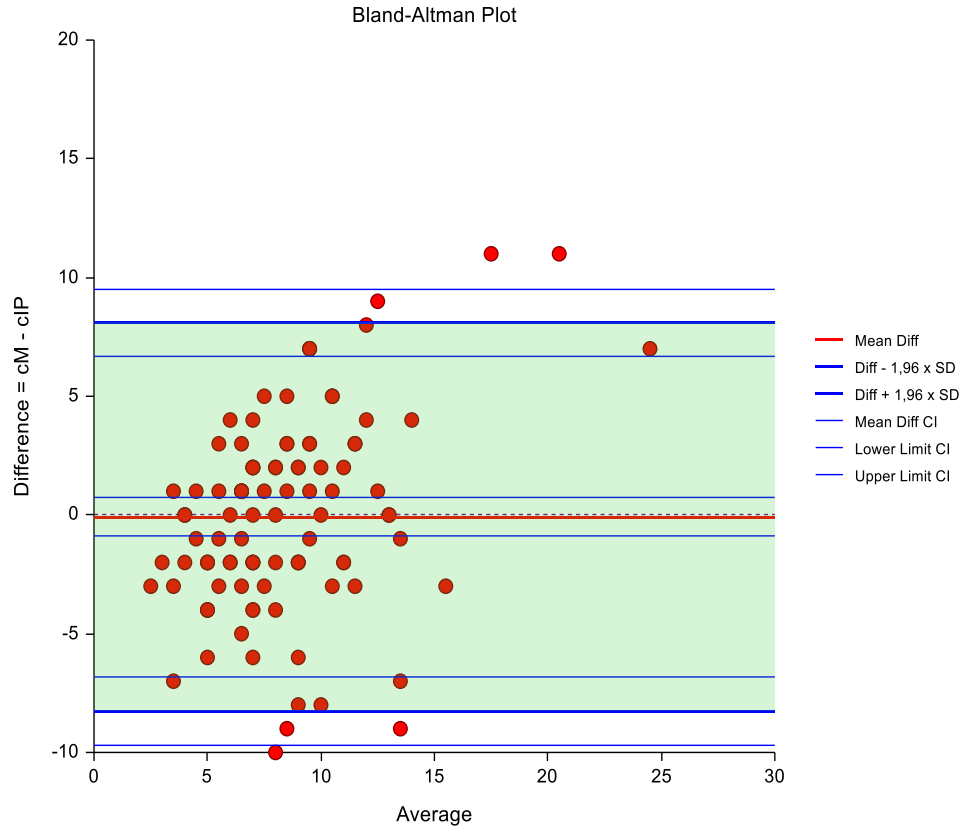


Şekil 4.8. b tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ortalama değerler grafiği.

4.4. c Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

100 hastanın hareketlilik ölçümleri ile öncelikle Makler Sayım Kamarası ile Islak Preparat yöntemindeki değerlerinin aralarındaki ilişkisinin derecelerinin anlaşılması amacı ile korelasyon katsayısı (r: -1.0 ve +1.0 arasında) bulundu. Sperm hareketliliğinde c (yerinde hareketli) tipi sperm hücresi için korelasyon katsayısı 0.517 olarak bulundu ($r=0.517$) ve bu durum iki yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif orta derecede korelasyon olduğu şeklinde yorumlandı.

İki yöntemin karşılaştırılmasında, iki farklı yöntemden elde edilen ölçüm değerlerinin ortalamalarına ilişkin farkların saçılım grafiğinin çizilmesi için Bland-Altman istatistiksel analiz yöntemi uygulandı. Bland-Altman analizi ile belirlenen saçılım grafiğinde; ölçüm hataları, gerçek değerler arasındaki herhangi bir ilişkinin ve hatanın incelenmesine olanak sağlarken aynı zamanda; ortalamalara karşı farkların saçılımı ile iki yöntem arasındaki uyum farkları ortalaması (d-) ve standart sapma (s) kullanılarak değerlendirildi. Saçılım grafiğinin sıfırın etrafında rastgele dağılması ve $d \pm 1.96s$ uyum sınırı olarak kabul edilerek % 95'inin bu uyum sınırı arasında olması saçılımın normal dağılıma sahip olduğunu gösterdi. Şekil 4.9'da saçılım grafiğinde; x eksenini c tipi sperm hücresinin Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi arasındaki ölçümleri ortalamasını, y eksenini ise aralarındaki farkları gösterdi. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi ile belirlenen c tipi sperm hücresinin değerleri karşılaştırıldığında; iki yöntemin aralarındaki uyum farklarının ortalaması yani $d=-0.08$, standart sapması yani $s=4.17$ olarak bulundu. Güven aralığı % 95'i için; -0.908 ile 0.748 arasında bulundu. Makler Sayım Kamarası c (yerinde hareketli) tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen c tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 0.08 daha düşük bulunduğu belirlendi (Tablo 4.5).

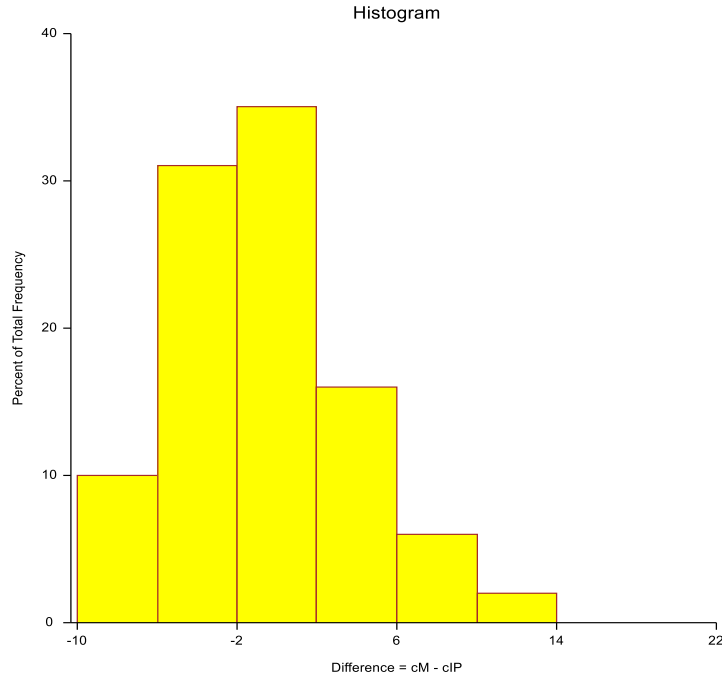


Şekil 4.9. c tipi sperm hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yönteminde belirlenen ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

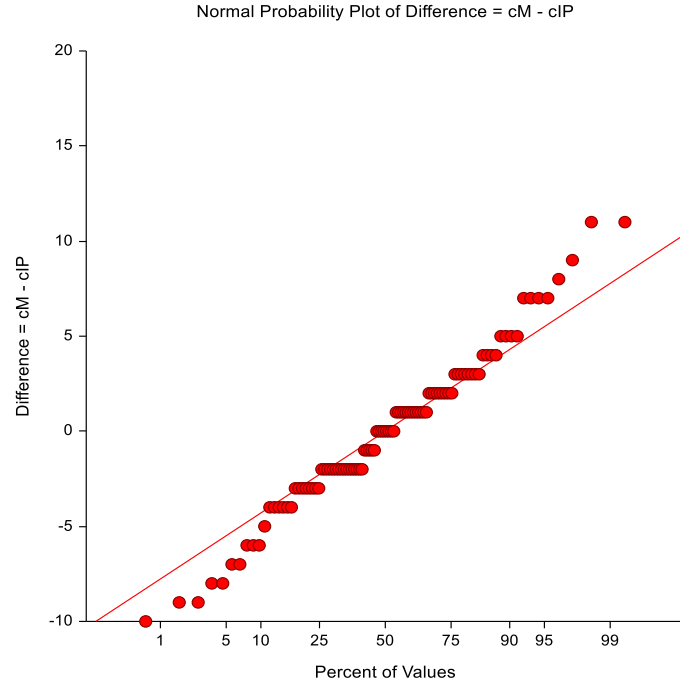
Tablo 4.5. c tipi sperm hücresi için iki yöntem arasındaki tanımlayıcı değerler.
(*=çarpma işlemi, *=ortalama fark, **=standart sapma)

Metot	n	Ortalama (d)	Standart Sapma (ss)	% 95 güven aralığı (d±1.96*ss)
c Tipi Sperm Yüzdesi Makler Sayım Kamarası	100	8.39	4.76	7.44 – 9.33
c Tipi Sperm Yüzdesi Islak Preparat	100	8.47	3.37	7.79 – 9.14
Ortalama Fark	100	-0.08*	4.17**	-0.908 – 0.748

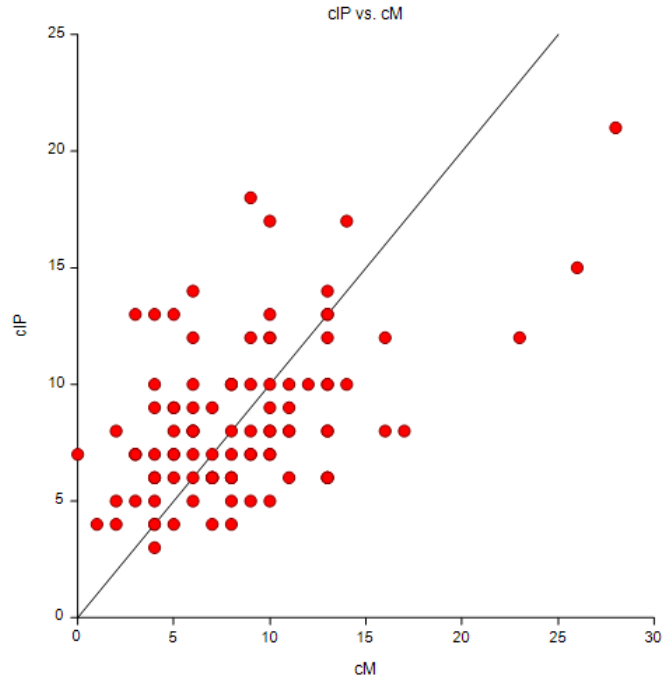
Parametrik olmayan normallik varsayımını sınavan en güçlü testlerden olan Shapiro-Wilk testi ile normallik varsayımını histogram şeklinde farkların dağılımının doğruluğunu belirlemek için kullanıldı. Shapiro-Wilk ile $p < 0.05$ ise normal dağılımda olmadığı ve hipotezin kabul edilmediğini, $p > 0.05$ ise normal dağılımda olduğu ve hipotezin kabul edildiğini gösterir. Shapiro-Wilk ile bulunan $p = 0.205$ sonucu ile normal dağılımda bulunduğu ve anlamlı bir fark olmadığı şeklinde bir sonuca varıldı (Şekil 4.10, 4.11, 4.12).



Şekil 4.10. c tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.11. c tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına dair fark grafiği.

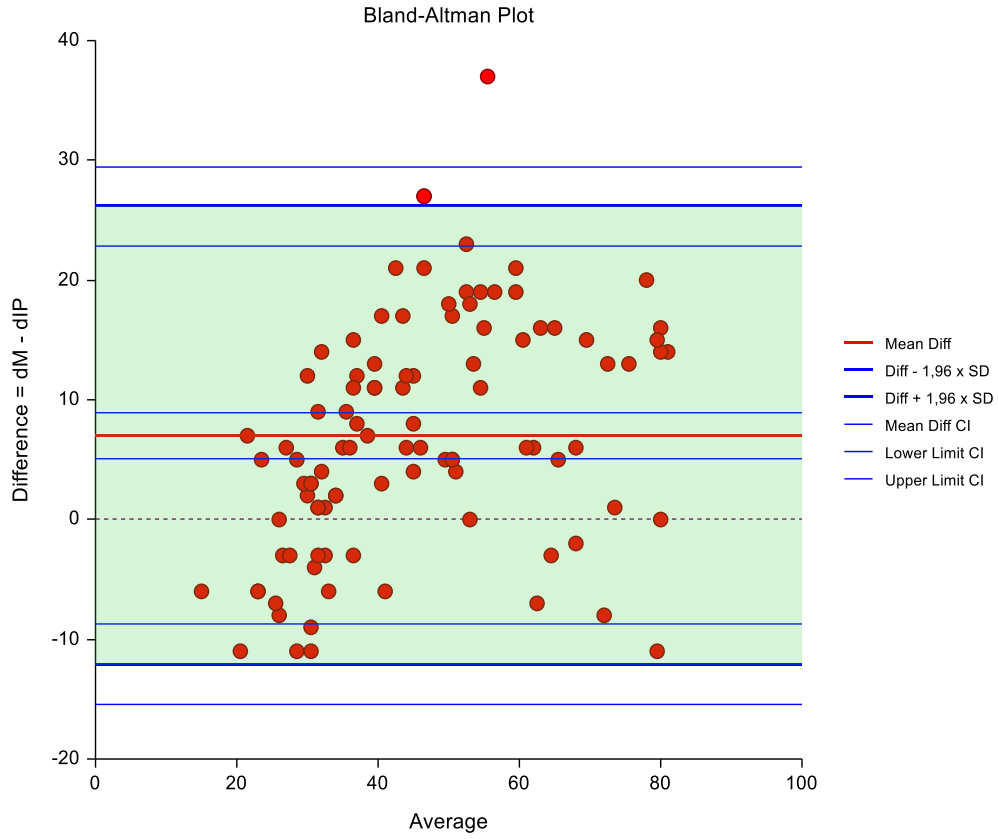


Şekil 4.12. c tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ortalama değerler grafiği.

4.5. d Tipi Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

100 hastanın hareketlilik ölçümleri ile öncelikle Makler Sayım Kamarası ile Islak Preparat yöntemindeki değerlerinin aralarındaki ilişkisinin derecelerinin anlaşılması amacı ile korelasyon katsayısı (r ; -1.0 ve +1.0 arasında) bulundu. Sperm hareketliliğinde d (hareketsiz) tipi sperm hücresi için korelasyon katsayısı 0.86 olarak bulundu ($r=0.86$) ve bu durum iki yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif yüksek derecede korelasyon olduğu şeklinde yorumlandı.

İki yöntemin karşılaştırılmasında, iki farklı yöntemden elde edilen ölçüm değerlerinin ortalamalarına ilişkin farkların saçılım grafiğinin çizilmesi için Bland-Altman istatistiksel analiz yöntemi uygulandı. Bland-Altman analizi ile belirlenen saçılım grafiğinde; ölçüm hataları, gerçek değerler arasındaki herhangi bir ilişkinin ve hatanın incelenmesine olanak sağlarken aynı zamanda; ortalamalara karşı farkların saçılımı ile iki yöntem arasındaki uyum farkları ortalaması (d -) ve standart sapma (s) kullanılarak değerlendirildi. Saçılım grafiğinin sıfırın etrafında rastgele dağılması ve $d \pm 1.96s$ uyum sınırı olarak kabul edilerek % 95'inin bu uyum sınırı arasında olması saçılımın normal dağılıma sahip olduğunu gösterdi. Şekil 4.13'de saçılım grafiğinde; x eksenini d tipi sperm hücresinin Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi arasındaki ölçümleri ortalamasını, y eksenini ise aralarındaki farkları gösterdi. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi ile belirlenen d tipi sperm hücresinin değerleri karşılaştırıldığında; iki yöntemin aralarındaki uyum farklarının ortalaması yani $d=7.04$, standart sapması yani $s=9.75$ olarak bulundu. Güven aralığı % 95'i için; 5.10 ile 8.97 arasında bulundu. Makler Sayım Kamarası d (hareketsiz) tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen d tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 7.04 daha yüksek bulunduğu belirlendi (Tablo 4.6).

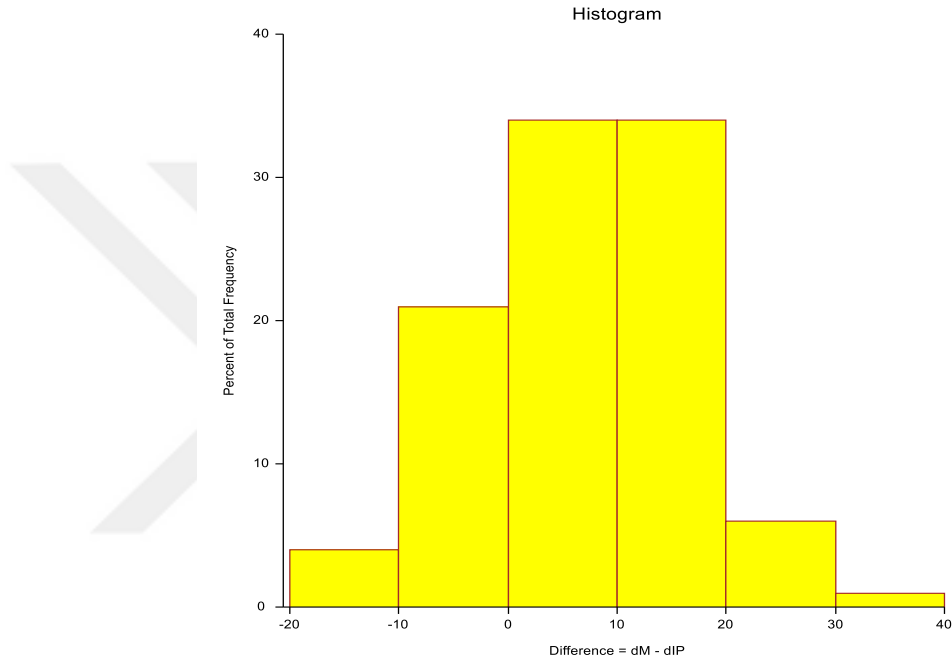


Şekil 4.13. d tipi sperm hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yönteminde belirlenen ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

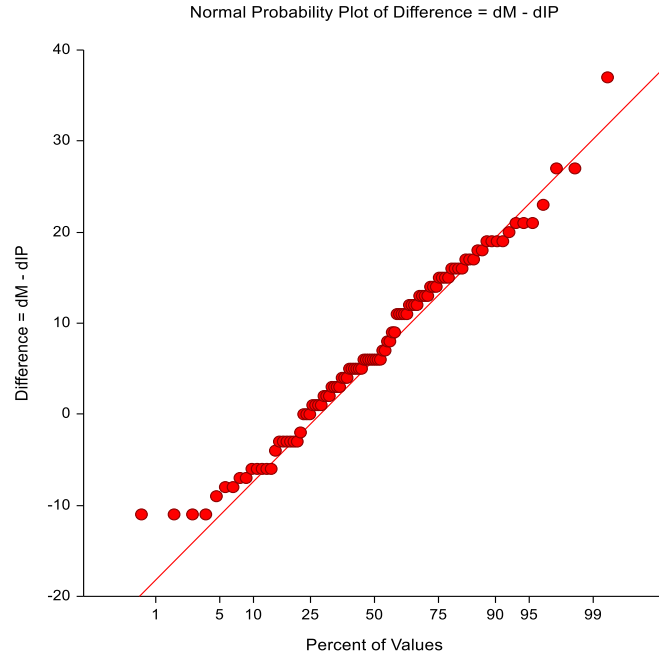
Tablo 4.6. d tipi sperm hücresi için iki yöntem arasındaki tanımlayıcı değerler. (*=çarpma işlemi, *=ortalama fark, **=standart sapma)

Metot	n	Ortalama (d)	Standart Sapma (ss)	% 95 güven aralığı (d±1.96*ss)
d Tipi Sperm Yüzdesi Makler Sayım Kamarası	100	49.22	19.10	45.42 – 53.01
d Tipi Sperm Yüzdesi Islak Preparat	100	42.18	15.59	39.08 – 45.27
Ortalama Fark	100	7.04*	9.75**	5.10 – 8.97

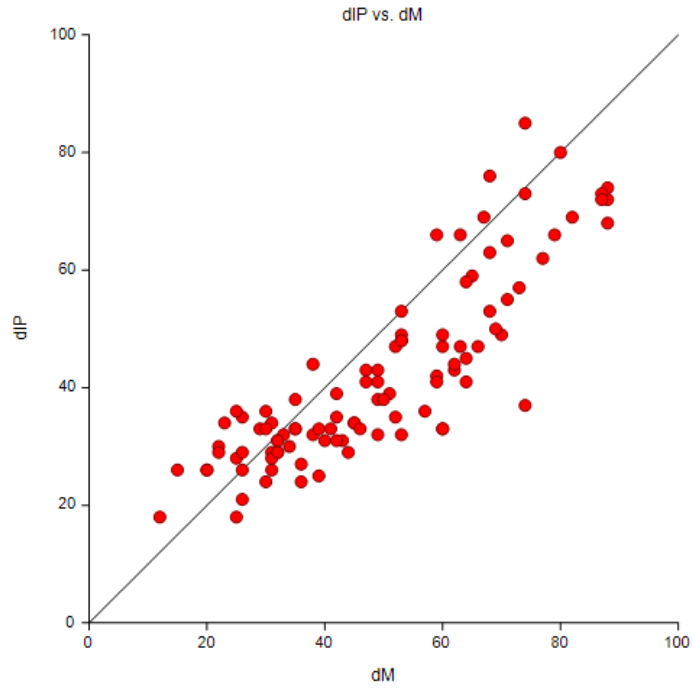
Parametrik olmayan normallik varsayımını sınavan en güçlü testlerden olan Shapiro-Wilk testi ile normallik varsayımını histogram şeklinde farkların dağılımının doğruluğunu belirlemek için kullanıldı. Shapiro-Wilk ile $p < 0.05$ ise normal dağılımda olmadığı ve hipotezin kabul edilmediğini, $p > 0.05$ ise normal dağılımda olduğu ve hipotezin kabul edildiğini gösterir. Shapiro-Wilk ile bulunan $p = 0.188$ sonucu ile normal dağılımda bulunduğu ve anlamlı bir fark olmadığı şeklinde bir sonuca varıldı (Şekil 4.14, 4.15, 4.16).



Şekil 4.14. d tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.15. d tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına dair fark grafiği.

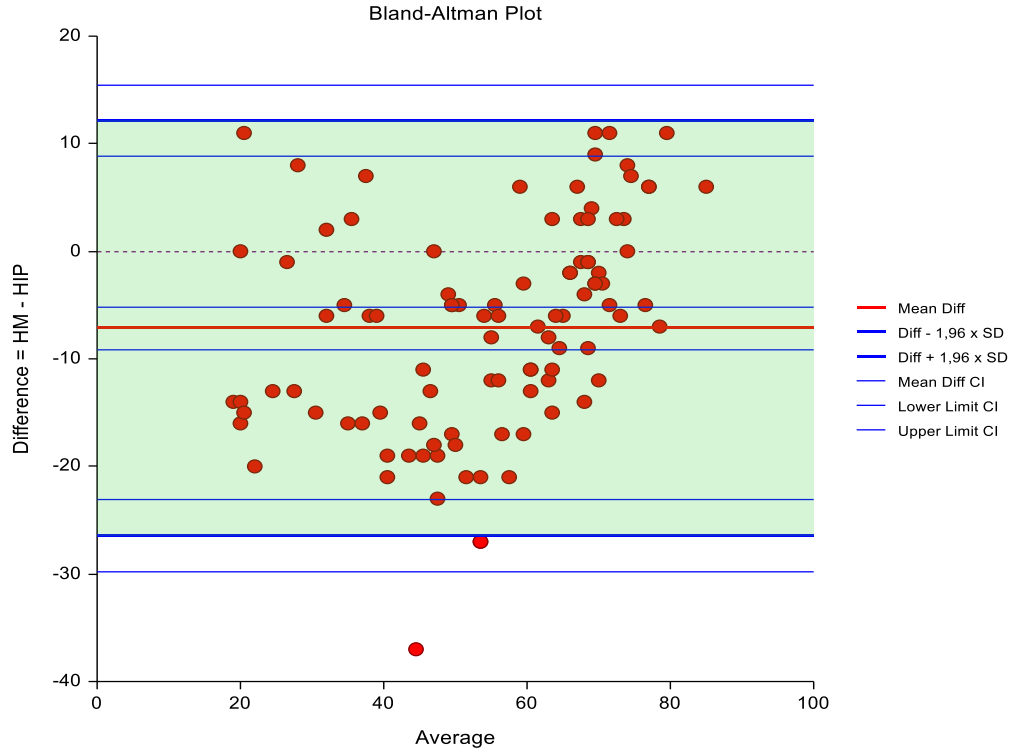


Şekil 4.16. d tipi sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ortalama değerler grafiği.

4.6. Hareketli Sperm Hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat Yöntemi Arasındaki Uyumun Bland-Altman Analizi ile Değerlendirilmesi

100 hastanın hareketlilik ölçümleri ile öncelikle Makler Sayım Kamarası ile Islak Preparat yöntemindeki değerlerinin aralarındaki ilişkisinin derecelerinin anlaşılması amacı ile korelasyon katsayısı (r : -1.0 ve +1.0 arasında) bulundu. Sperm hareketliliği için korelasyon katsayısı 0.858 olarak bulundu ($r=0.858$) ve bu durum iki yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif yüksek derecede korelasyon olduğu şeklinde yorumlandı.

İki yöntemin karşılaştırılmasında, iki farklı yöntemden elde edilen ölçüm değerlerinin ortalamalarına ilişkin farkların saçılım grafiğinin çizilmesi için Bland-Altman istatistiksel analiz yöntemi uygulandı. Bland-Altman analizi ile belirlenen saçılım grafiğinde; ölçüm hataları, gerçek değerler arasındaki herhangi bir ilişkinin ve hatanın incelenmesine olanak sağlarken aynı zamanda; ortalamalara karşı farkların saçılımı ile iki yöntem arasındaki uyum farkları ortalaması (d -) ve standart sapma (s) kullanılarak değerlendirildi. Saçılım grafiğinin sıfırın etrafında rastgele dağılması ve $d \pm 1.96s$ uyum sınırı olarak kabul edilerek % 95'inin bu uyum sınırı arasında olması saçılımın normal dağılıma sahip olduğunu gösterdi. Şekil 4.17'de saçılım grafiğinde; x eksenini hareketli ($a+b+c$) sperm hücresinin Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi arasındaki ölçümleri ortalamasını, y eksenini ise aralarındaki farkları gösterdi. Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi ile belirlenen hareketli sperm hücresinin değerleri karşılaştırıldığında; iki yöntemin aralarındaki uyum farklarının ortalaması yani $d=-7.15$, standart sapması yani $s=9.84$ olarak bulundu. Güven aralığı % 95'i için; -9.10 ile -5.19 arasında bulundu. Makler Sayım Kamarası hareketli ($a+b+c$) sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen hareketli sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 7.15 daha düşük bulunduğu belirlendi (Tablo 4.7).

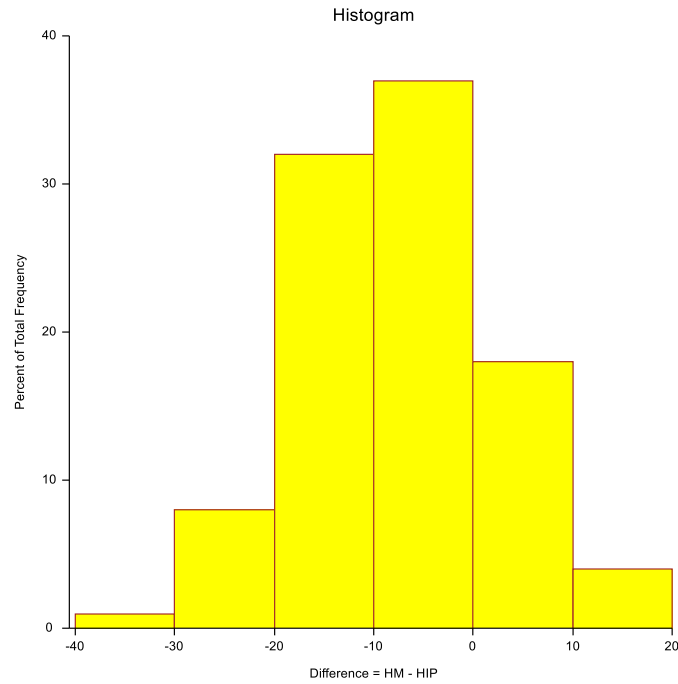


Şekil 4.17. Hareketli sperm hücresi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yönteminde belirlenen ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin saçılım grafiği.

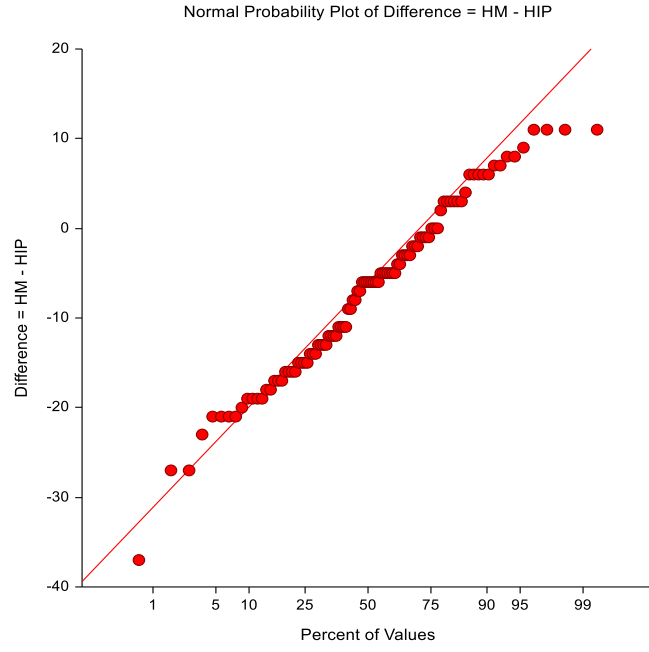
Tablo 4.7. Hareketli sperm hücresi için iki yöntem arasındaki tanımlayıcı değerler. (*=çarpma işlemi, *=ortalama fark, **=standart sapma)

Metot	n	Ortalama (d)	Standart Sapma (ss)	% 95 güven aralığı (d±1.96*ss)
Hareketli Sperm Yüzdesi Makler Sayım Kamarası	100	50.68	19.12	46.88 – 54.47
Hareketli Sperm Yüzdesi Islak Preparat	100	57.83	15.59	54.73 – 60.92
Ortalama Fark	100	-7.15*	9.84**	-9.10 – -5.19

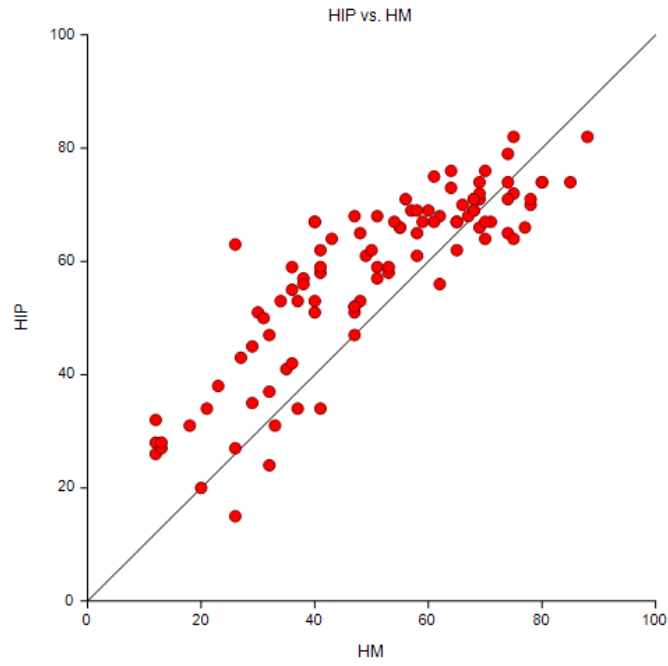
Parametrik olmayan normallik varsayımını sınavan en güçlü testlerden olan Shapiro-Wilk testi ile normallik varsayımını histogram şeklinde farkların dağılımının doğruluğunu belirlemek için kullanıldı. Shapiro-Wilk ile $p < 0.05$ ise normal dağılımda olmadığı ve hipotezin kabul edilmediğini, $p > 0.05$ ise normal dağılımda olduğu ve hipotezin kabul edildiğini gösterir. Shapiro-Wilk ile bulunan $p = 0.168$ sonucu ile normal dağılımda bulunduğu ve anlamlı bir fark olmadığı şeklinde bir sonuca varıldı (Şekil 4.18, 4.19, 4.20).



Şekil 4.18. Hareketli sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin ortalamaya karşı fark değerlerinin histogram grafiği (%).



Şekil 4.19. Hareketli sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ölçümlerin karşılaştırılmasına dair fark grafiği.



Şekil 4.20. Hareketli sperm yüzdesi için Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemine ait ortalama değerler grafiği.

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, semen analizinde sperm motilitesini belirlemek için sık kullanılan iki farklı yöntem olan, Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat ile elde edilen değerlerin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Makler Sayım Kamarası rutinde laboratuvarlarca en sık tercih edilen yöntemdir (Bailey ve ark., 2007), Islak Preparat ise Dünya Sağlık Örgütü'nün önerdiği hareket belirleme yöntemidir (WHO, 2010). Bu doğrultuda bir androloji laboratuvarı ortamında spermiyogram tahlili için gelen hastaların sperm hareketliliğinin değerlendirilmesinde 2 yöntemin birbirleri yerine kullanılabilirliği belirlendi. Hareketli sperm ortalaması (a+b+c) Makler Sayım Kamarası sonuçlarına göre % 50.68 (± 19.13), Islak Preparat yöntemine göre % 57.83 (± 15.6) olarak bulundu. Hareketsiz (d tipi) sperm ortalaması Makler Sayım Kamarası sonuçlarına göre % 49.22 (± 19.1), Islak Preparat yöntemine göre % 42.18 (± 15.59) olarak bulundu. İki farklı yöntemden elde edilen veriler karşılaştırıldığında aralarında pozitif korelasyon olduğu ($r=0.86$) görüldü. Ancak, sonuçlar arasındaki tutarlılık Bland-Altman yöntemi ile analiz edildiğinde, Makler Sayım Kamarasının Islak Preparata oranla, sperm hareketliliğini yaklaşık % 7.15 daha düşük bulduğu belirlendi. Sperm hareketliliği Makler Sayım Kamarası ile belirlendiğinde, Islak Preparata oranla daha düşük değerler elde edildiği bu nedenle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen yöntem olan Islak Preparatın kullanılmasının tercih edilmesi gerektiği sonucuna varıldı (WHO, 2010).

Spermiyogram, infertil çiftlerde erkeğin değerlendirilmesinde gerekli bir testtir. Spermiyogram ile belirlenen motilite yani sperm hareketliliği değerleri, çiftlerin IVF ile gebeliğinin oluşma olasılığı için de bir öngörüle bulunabilmesine katkıda bulunmaktadır. DSÖ'ye göre motilite değerlendirilmesinde ileri hareketli spermlerin hareketinin yavaş ve hızlı olarak sınıflandırılması, özellikle yetersiz eğitim ve tecrübeye sahip laboratuvar çalışanları tarafından tekrarlanabilir ve güvenli bir şekilde yapılamamaktadır, bu nedenle bu hücrelerin aynı kategoride ileri hareketli olarak değerlendirilmesi daha uygundur. Ancak ESHRE, yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin bu ayrımın önemini ortaya koyduğunu belirtmekte ve bu konuda bilgi

ve tecrübeyi arttırmak için kurslar açarak eğitimler düzenlemektedir (Barratt ve ark., 2011).

Jequier ve Ukombe (1983), semen analizi değerlendirilmesindeki hataları bulma amaçlı bir çalışma gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada, teknisyenler ve patoloğlardan oluşan 26 laboratuvar çalışanı ile semen analizi performansında oldukça deneyimli olan 3 teknisyen aynı semen üzerinde sperm hücresi konsantrasyonunu belirlemiştir. Sperm hücresi sayımları, Neubauer Hemositometresi ile yapılmıştır. Elde edilen veriler karşılaştırıldığında tüm değişkenlerde (konsantrasyon, motilite, morfoloji) büyük tutarsızlıklar görülmüştür. 26 teknisyenin sperm analizi sonuçlarına göre; konsantrasyon 10-98 mil/ml arasında, motilite % 30-80 arasında ve progresif hareketli sperm oranı % 5 ile % 90 arasında olduğu bulundu. Deneyimli 3 teknisyenin sperm analizi sonuçlarına göre; konsantrasyon 49-95 mil/ml arasında, motilite % 50-60 arasında olup ileri hareketlilik zayıf ya da iyi olarak belirlendi. Bu sonuçlar, bir semen analizi yapan farklı teknisyenlerin sonuçlarında ciddi farklılıklar olabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, tek bir gözlemci ile 2 farklı yöntem değerlendirildiğinden, sonuçlar arasında oluşabilecek bu hata ortadan kaldırılarak istatistiksel oranlar elde edildi. Androloji laboratuvarları, semen analizi yöntemindeki kabul edilebilir sınır değerleri bilmelidir (Jequier ve Ukombe, 1983). Çalışmamızda, semen analizi için gerçekleştirilen tüm veriler, günümüzde kabul edilen değerleri içeren, DSÖ 2010'da belirtilmiş olan alt sınır referanslarına göre değerlendirildi.

Semen analizinde, hem manuel hem de bilgisayar destekli motilite değerlendirilmesinde hızlı ilerleyen spermelerin oranının doğru olarak belirlenmesinin ayrışmasının ÜYTE için değerli bir bilgi olduğunu gösteren klinik veriler bulunmaktadır. Mortimer ve arkadaşları (1986), hareketli spermelerin hız özelliklerinin, servikal mukusa nüfus etme kabiliyetinde önemli bir yeri olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, infertilite sebebiyle başvuran çiftlerin rutin olarak araştırılmasının bir parçası olarak, sperm hücresinin servikal mukus içine nüfuz ettiği 100 hastaya modifiye Kremer testi dizisi gerçekleştirildi. Bu testlerin sonucunda, test için kullanılan semen numunesindeki spermatozoanın konsantrasyonu ve ilerleyici hareketliliğinin servikal mukus içerisindeki hareket ile anlamlı şekilde korelasyon içerisinde olduğu bulundu. Test sonucu ile anlamlı şekilde ilişkisi olan diğer sperm

karakteristikleri, progresyonun ortalama hızı (VP) ve progresif spermatozoanın progresyon eksenini (AH) etrafındaki lateral yer değiştirme geniğliğidir. Normal sperm morfolojisinin de sonuğla korelasyon içerisinde olduğu bulundu. Bu semen özelliklerinin, diskriminant fonksiyon denkleminde elde edilen test sonuçlarının % 75'inin doğru tahmin edildiği görüldü. Testler için kullanılan semen örneklerinde sperm konsantrasyonları 25×10^6 veya daha çok olan 30 hastada, ml başına aşamalı olarak hareketli spermler, ortalama progresyonun ortalama hızı (VP), 25 mikron/sn'ye eşit veya daha büyük; ortalama progresif spermatozoanın progresyon eksenini (AH) 7.5 mikrona eşit veya daha büyük bulunarak, % 83.3 normal test sonucu alındı. Bu nedenle, hem progresif hareketli spermlerin konsantrasyonu hem de hareket özellikleri, insan sperm-servikal mukus etkileşiminin homolog testlerinin sonucunu belirleyen önemli faktörler olarak belirtildi.

ÜYTE'lerde motilitenin önemi ile ilgili bir diğer çalışmayı Van den Bergh ve arkadaşları 1998' de gerçekleştirmiştir. Bu alışma, ICSI'de oosit içine enjekte edilen spermlerin, düz çizgi şeklinde ve ileri hızlı harekete sahip olmaları durumunda döllenme sonucunu önemli derecede arttırdığını göstermiştir (Van den Bergh ve ark., 1998). Sifer ve arkadaşları da (2005), erkek faktörlü ve açıklanamayan infertilite hastalarından oluşan 84 çiftin döllenme sonuçlarını incelediğinde, semen özelliklerinden arasında yalnızca "a" tipi hareketliliğin ve sperm-zona pellusida bağlanma indeksinin döllenme başarısı ile anlamlı bir şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir (Sifer ve ark., 2005). Sperm motilitelerini 2 farklı yöntem ile değerlendirdiğimiz çalışmamızda, a tipi harekete sahip sperm hücresi için bu iki farklı yöntem ile elde edilen sonuçlar arasında $r=0,77$ olmak üzere aralarında yüksek derecede pozitif korelasyon olduğu bulundu. Makler Sayım Kamarası a tipi ile belirlenen sperm yüzdesinin Islak Preparatta belirlenen a tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 2.61 daha yüksek bulunduğu belirlendi. Yani, toplam sperm hareketliliği (a+b+c) Makler Sayım Kamarasında Islak Preparata oranla daha düşük bulurken, a tipi hareket yüzdesi Makler Sayım Kamarasında daha yüksek bulundu. İnfertilite ÜYTE'nin başarısını öngörmedeki önemi nedeniyle; farklı yöntemler ile farklı sonuçlar aldığımız çalışmamız, hareketin belirlenmesinde doğru yöntemin kullanılmasının önemini desteklemiştir.

İnfertilite tedavileri ya da semen analizi testi için başvuran bireylerin motilite değerlendirilmesi kadar sperm konsantrasyonları da hastaya uygulanacak tedavi seçimleri için önemlidir. Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ile sperm hücrelerinin sayımı, yüksek konsantrasyonlu numunelerin seyreltilmesini ve spermin tek bir düzlemde sayılmasını içeren esnek özelliklere sahip olması nedeniyle androloji laboratuvarları içerisinde kuvvetle kabul görmekte ve birkaç çalışma ile klinik olarak doğrulanmaktadır (Dunphy ve ark., 1989; Guzick ve ark., 2001). Leja slaytı veya Microcell gibi diğer yöntemler ile özellikle yüksek konsantrasyonlarda Neubauer Hemositometresine kıyasla anlamlı olarak daha düşük sperm sayılarının elde edildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Tomlinson ve ark., 2001). DSÖ 2010'da sperm konsantrasyonunu belirlemek için semen içerisine dilüsyon eklenerek sperm hücrelerinin ölümü sağlanarak sperm sayımının gerçekleştirilmesine olanak veren Neubauer Hemositometresini önermektedir (WHO, 2010). Sperm konsantrasyonu belirlemek için kullanılan bir diğer yöntem olan Makler Sayım Kamarası, daha önceki çalışmalarda kullanıldığından çalışmamızda hem motiliteyi hem de konsantrasyonu belirlemek için kullanıldı (Makler, 1980; Ludwig ve Frick, 1987; Fisch ve ark., 1996; Jequier, 2000). Makler Sayım Kamarası içerisinde homojen dağılım gösteren karelerin 10 tanesi seçilerek, sayılan tüm sperm hücreleri sperm konsantrasyonunu belirler (Jequier, 2000). Çalışmamızda, sperm konsantrasyonunu 0.4-668 milyon/ml arasında ve ortalama 76.6 (\pm 85.8) milyon/ml olarak belirlendi. Ayrıca, 100 hasta numunesi içerisinde 10 mil/ml ve altında konsantrasyona sahip 13 hasta, 1 mil/ml ve altında konsantrasyona sahip 3 hasta belirlendi. Makler Sperm Kamarası ile belirlenen konsantrasyonların genel olarak, Neubauer Hemositometresi ile elde edilen sayımlardan daha yüksek olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Coetzee ve Menkveld, 2001; Sukcharoen ve ark., 1994). Ancak, Bailey ve arkadaşları (2007) 163 hasta numunesindeki sperm sayımı ile ilgili Leja lamı, Neubauer Hemositometresi ve Makler Sayım Kamarası ile yapmış oldukları çalışmada, Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi ve Makler Sayım Kamarasının çok düşük sperm konsantrasyonlarında uyumun çok iyi olduğunu bulmuştur. Bu çalışmada ayrıca sperm sayısı için Leja lamı; Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi kullanılarak elde edilen sonuçlara göre ortalama % 17 daha düşük, Makler Sayım Kamarası ise ortalama % 32 daha yüksek bulmuştur. Leja lamı ile Makler Sayım Kamarası sperm motilite açısından değerlendirildiğinde ise hareketli spermlerin doğru sayılmamasının sperm sayısını etkilediği düşünülmüştür.

Androloji laboratuvarları hızlı sonuç vermesi ve kullanım rahatlığından dolayı sperm sayım yöntemi olarak Leja lamı ya da Makler Sayım Kamarasını tercih etmektedir (Bailey ve ark., 2007). Laboratuvarlar arasındaki anlaşmazlıklar nedeniyle gelen hasta, bir kişi tarafından normal, bir kişi tarafından infertil olarak sınıflandırılabilir (Neuwinger et al, 1990). Bailey ve arkadaşlarının 2007'deki 163 hasta numunesi üzerinde yapılan çalışmada; Leja lamı kullanıldığında erkeklerin 20'sine oligospermi tanısı konulmuş ve Geliştirilmiş Neubauer Hemositometresi sayımlarına göre 15'ine oligospermi tanısı konulmuştur. Buna karşılık, Makler Sayım Kamarası kullanılarak sperm sayısını fazla aşma eğilimi nedeniyle sadece 1/28 erkekte oligospermi olduğu tespit edilmiştir. Sperm konsantrasyonları da hastaya uygulanacak tedavi seçimleri için önemli olduğundan laboratuvarlar, tam olarak onaylanmış, güvenilir ve bunları yürütmek için uygun şekilde eğitilmiş personel ile tekrarlanabilir sperm sayım yöntemlerini içeren prosedürleri uygulamayı amaçlamalıdır (Guzick ve ark., 2001; Björndahl ve ark., 2015).

Her semen numunesinin farklı kısımlarının farklı şekillerde ele alındığı ve karşılaştırıldığı bir çalışmada, zayıf laboratuvar yöntemlerinin gerçek değerleri gizleyebildiği bulunmuştur (Tomlinson, 2010). Öte yandan klinik durumda, bir veya birkaç semen analizinden elde edilen laboratuvar verilerinin bir tedavi yöntemine karar vermek için kullanılıp tedavinin sonucu üzerinde bir etkiye sahip olacağından daha yüksek güvenilirliğe ihtiyaç duyulabilir (Tomlinson, 2010; Björndahl, 2016). Bunu açıklamaya yönelik, bir klinik laboratuvarın Makler Sayım Kamarası gibi bir sığ odada semenden elde edilen bir sperm konsantrasyonuna dayanarak, IVF veya ICSI yapılıp yapılmayacağına karar verilmesi güvenilir bir sonuç elde etmek için yetersiz olabilmektedir. Makler Sayım Kamarası, yayınlanan önerilerle uyumlu olmasa da klinik uygulamada hala yaygın kullanım göstermektedir (Björndahl, 2016).

Robinson ve arkadaşları (2018), semen analizi için gelen 20 hasta numunesi üzerinde yaptıkları çalışmada, bilgisayar destekli semen analizi (CASA) ile 20 µm'lik MicroCell slaytları ve mikroskop lamlarına (5 µl'lik ve 10 µl'lik) semen eklenen 22 mm x 22 mm lamellerde, motilite ve işlem aralarındaki zaman farklarının etkisini gözlemledi. MicroCell odaları, 5 µl'lik semen ve 10 µl'lik semen içeren slaytların tümü, 5 dakikaya kadar olan tüm hareketlilik kategorileri için kararlı

okumalar vermiştir. 20 dakika sonra hem MicroCell hem de 5 µl'lik semen içeren slaytlar 0 dakikadaki değerler ile karşılaştırıldığında motilitede belirgin bir azalma gösteren bir takım değişiklikler görülmüştür. Haznenin derinliği, hücreleri odak içinde tutarken spermin serbest hareketine izin vermek için yeterli olması bakımından önemlidir. ESHRE 1998'de, insan spermleri için kullanılan haznelerin veya slaytların, sperm hareketliliği ve kinetiği değerlendirirken 10 µl ve 20 µl derinlikte olmasını önermektedir. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda, Islak Preparat ile sperm sayımı yaparken 22 mm x 22 mm'lik lamel kullanıldığı için, lam üzerine 10 µl'lik semen eklenerek, 20.7 µm'lik derinlik oluşturup gözlem yapıldı. Robinson ve arkadaşları (2018) aynı çalışmada, oda tipleri arasında zamanın sperm hareketliliğine etkisi için; MicroCell odasına semen yüklendikten sonra lam lamel arası 5µl'lik semen ve 10µl'lik semen içeren slaytlar, gözlemci tarafından, 0 dakika, 2.5 dakika, 5 dakika ve 20 dakika zaman aralıklarında sperm sayımları yapmıştır. Sperm hareketliliği için slayt tipleri arasında istatistiksel bir fark gözlenmediği bulunmuştur. Bu bilgiler eşliğinde çalışmamızda Makler Sayım Kamarası ile Islak Preparat arasında 100 hasta için ortalama 25.95 dakika arasında sperm hareketliliği değerlendirilmesi yapıldı.

Semen analizinde vitalite değerlendirilmesi ileri hareketli sperm hücrelerinin (a+b) % 40'dan daha az olduğu hasta numuneleri için önerilmektedir. Vitalite sonucuna göre, canlı hücre yüzdesinin motilite ile belirlenen ileri hareketli yüzdesini geçmesi, motilite değerlendirmesinde bir yanlışlığı göstermezken; ölü sperm yüzdesinin hareketsiz olarak belirlenen sperm yüzdesini geçmesi motilite değerlendirilmesinde hata olduğunu göstermektedir (WHO, 2010). 100 hasta ile gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda motilite sonuçlarına göre Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatta vitalite yapılması gereken hasta sayıları farklı çıktı. Ortak olarak vitalite testi yapılması gereken hasta sayısı 25 iken, Makler Sayım Kamarası ile belirlenen hareketlilik sonuçlarına göre 17 hastaya daha vitalite değerlendirilmesi yapılması gerekir sonucuna varıldı. Ancak bu çalışmamızda daha güvenilir sonuçlar almamız açısından 2 farklı yöntem sonuçlarına göre vitalite değerlendirilmesi yapmamız gerekirdi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Kadın Doğum Polikliniğinden ya da Üroloji Polikliniğinden semen analizi testi için Androloji Laboratuvarına gelen ve gönüllü olan, yaşları 20-48 arasında değişen 100 hastanın semen analizi testi uygulamasından sonra, hastanın kalan semen numuneleri üzerinde çalışmamız gerçekleştirildi. Bu çalışma ile semen analizinde, sperm motilitesini belirlemek için en sık kullanılan iki farklı yöntem olan Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat ile elde edilen değerler karşılaştırıldı ve birbirleri yerine kullanılabilirlikleri değerlendirildi.

Sperm konsantrasyonu ve toplam sperm sayısı Makler Sayım Kamarası ile elde edilen hastaların; sperm konsantrasyonu 0.4-668 milyon/ml arasında ve ortalama 76.6 (± 85.8) milyon/ml, toplam sperm sayısı 2.88-1736.8 milyon adet ve ortalama 264.7 (± 285.6) milyon adet olarak bulundu. Sperm morfolojisi için kullanılan Diff-Quik boyaması sonucu Kruger kriterlerine göre; normal morfolojiye sahip sperm yüzdesi 0-28 arasında değişmekte olup ortalama 9.09 (± 6.19) olarak, teratozoospermi indeksi (TZI) 1.21- 1.93 arasında değişmekte olup ortalama 1.50 (± 0.146) olarak belirlendi.

100 hasta içeren çalışmamızda, Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat yöntemi ile motilite ölçüm değerlerinin arasındaki ilişkinin derecelerinin anlaşılması amacı ile korelasyon katsayısı (r ; -1.0 ve +1.0 arasında) bulundu. İki yöntemin karşılaştırılmasında, iki farklı yöntemden elde edilen ölçüm değerlerinin ortalamalarına ilişkin farkların saçılım grafiğinin çizilmesi için Bland-Altman istatistiksel analiz yöntemi uygulandı. Bland-Altman analizi ile belirlenen saçılım grafiğinde; ölçüm hataları, gerçek değerler arasındaki herhangi bir ilişkinin ve hatanın incelenmesine olanak sağlarken aynı zamanda; ortalamalara karşı farkların saçılımı ile iki yöntem arasındaki uyum farkları ortalaması (d -) ve standart sapma (s) kullanılarak değerlendirildi. Saçılım grafiğinin sıfırın etrafında rastgele dağılması ve

$d \pm 1.96s$ uyum sınırı olarak kabul edilerek % 95'inin bu uyum sınırı arasında olması saçılımın normal dağılıma sahip olduğunu gösterdi.

Makler Sayım Kamarası a tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen a tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 2.61 daha yüksek bulunduğu belirlendi. Makler Sayım Kamarası b tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen b tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 9.58 daha düşük bulunduğu belirlendi. Birçok çalışmada a ve b tipinin ayırt edilmesinin infertilite tedavilerindeki başarıyla ilişkilendirildiği bilinmektedir. Çalışmamızda Makler Sayım Kamarası, Islak Preparata göre a tipi hareket için daha yüksek, b tipi hareket için daha düşük belirlendi.

Makler Sayım Kamarası c tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen c tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 0.08 daha düşük bulunduğu belirlendi. Makler Sayım Kamarası d tipi sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen d tipi sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 7.04 daha yüksek bulunduğu belirlendi. Makler Sayım Kamarası toplam hareketli (a+b+c) sperm yüzdesini Islak Preparatta belirlenen hareketli sperm yüzdesine oranla yaklaşık % 7.15 daha düşük bulunduğu belirlendi.

Makler Sayım Kamarası kullanım kolaylığından dolayı laboratuvarlarda oldukça sık kullanılan sperm sayım yöntemidir. Ancak çalışmamızda, toplam sperm hareketliliği Makler Sayım Kamarası ile belirlendiğinde, Islak Preparata oranla daha düşük değerler elde edildiği bu nedenle DSÖ tarafından önerilen yöntem olan Islak Preparatın kullanılmasının tercih edilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Hareketli spermilerin % 40'dan daha az olduğu hastalarda vitalite değerlendirmesi, yapılan çalışmadaki hareketli ve hareketsiz yüzdesinin doğruluğunu teyit etmek açısından önemlidir. Vitalite sonucuna göre, canlı hücre yüzdesinin motilite ile belirlenen ileri hareketli yüzdesini geçmesi, motilite değerlendirmesinde bir yanlışlığı göstermezken; ölü sperm yüzdesinin hareketsiz olarak belirlenen sperm yüzdesini geçmesi motilite değerlendirilmesinde hata olduğunu göstermektedir. Çalışmamızın motilite sonuçlarına göre Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatta vitalite yapılması gereken hasta sayıları farklı çıktı. Ortak olarak vitalite testi yapılması gereken hasta sayısı 25 iken, Makler Sayım Kamarası ile belirlenen hareketlilik sonuçlarına göre 17 hastaya daha vitalite değerlendirilmesi yapılması

gerekir sonucuna varıldı. Ancak bu çalışmamızda daha güvenilir sonuçlar almamız açısından 2 farklı yöntem sonuçlarına göre vitalite değerlendirilmesi yapmamız gerekirdi.

Çalışmamızdaki hastaların sperm hareketliliği için kesin sonuçları bulunmadığından, Bland-Altman analizi ile kesin verilere en yakın olduğu düşünülen iki farklı ölçümün ortalaması kullanıldı. Makler Sayım Kamarası, DSÖ'nün önerdiği Islak Preparata göre hareketli ve hareketsiz sperm ölçümleri için yüksek, toplam hareketlilik ölçümleri için daha düşük sonuçlar vermiştir. Laboratuvar ortamında tek bir gözlemcinin değerlendirmeleri yapması, güvenilir sonuçlar elde etmenin önemi açısından da tekrarlanabilir yöntemin seçilmesi ve örnek sayısının artırılması elde edilen verilerin karşılaştırılması için yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

Agarwal A, Gupta S and Sharma R (eds). Basic semen analysis. *Andrological Evaluation of Male Infertility – a Laboratory Guide*. Springer International Publishing AG Switzerland, 2016: 39-46.

Amann RP. The cycle of the seminiferous epithelium in humans: A need to revisit?. *Journal of Andrology*. 2008, 29(5):469-487.

Amelar RD and Hotchkiss RS. The split ejaculate – its use in the management of male infertility. *Fertility & Sterility*, 1965, 16(1):46-60.

Andres E, Rivera R, Garrido N. The application of genetic tests in an assisted reproduction unit: cystic fibrosis carrier screening. In: Garrido N and Rivera R (eds). *A Practical Guide to Sperm Analysis – Basic Andrology in Reproductive Medicine*. CRC Press Taylor & Francis Group, 2017: 61-70.

ASRM. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. 2013, 99(1): 63.

Aumüller G. Histogenesis and organogenesis – Anatomy of the human prostate gland and seminal vesicles. In: *Prostate Gland and Seminal Vesicles*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1979a: 43-52.

Aumüller G. Histogenesis and organogenesis – Embryology of the prostate gland and the seminal vesicles. In: *Prostate Gland and Seminal Vesicles*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1979b: 12-42.

Aumüller G. Prostate gland. In: *Prostate Gland and Seminal Vesicles*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, 1979c: 53-77.

Aytekin Y, Solakoğlu S. Erkek üreme sisteminin histolojisi. İçinde: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman MÖ, Usta MF, Kendirci M (editörler).

Erkek Reprodüktif Hastalıkları ve Tedavisi, 1. Baskı. İstanbul, Türk Androloji Derneği Yayınları, 2004: 35-60.

Aziz N. The importance of semen analysis in the context of azoospermia. *Clinics*. Sao Paulo, 2013, 68(1):35-38.

Bailey E, Fenning N, Chamberlain S, Devlin L, Hopkisson J, Tomlinson M. Validation of sperm counting methods using limits of agreement. *Journal of Andrology*, 2007, 28(3):364-373.

Barratt CLR, Björndahl L, Menkveld R and Mortimer D. ESHRE special interest group for andrology basic semen analysis course: a continued focus on accuracy, quality, efficiency and clinical relevance. *Human Reproduction*, 2011, 26(12):3207-3212.

Batıslam E, Basar MM. Erkek üreme sisteminin anatomisi. İçinde: Kadioğlu A, Çayan S, Semerci B, Orhan İ, Aşçı R, Yaman MÖ, Usta MF, Kendirci M (editörler). *Erkek Reprodüktif Hastalıkları ve Tedavisi*. 1. Baskı. İstanbul, Türk Androloji Derneği Yayınları, 2004: 25-34.

Berman DM, Rodriguez R and Veltri RW. Development, molecular, biology and physiology of the prostate. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Novick AC and Peters CA. *Campbell-Walsh Urology*, USA. Elsevier Saunders, 10 th ed. 2012: 2534-2971.

Biotech. http://www.tkbiotech.com.pl/imagesUser/file/makler_chamber_protocol.pdf
20 Mart 2018.

Björndahl L and Kvist U. Sequence of ejaculation affects the spermatozoon as a carrier and its message. *Reproductive BioMedicine Online*. 2003, 7(4):440-448.

Björndahl L, Barratt CLR, Fraser LR, Kvist U and Mortimer D. ESHRE basic semen analysis courses 1995-1999: immediate beneficial effects of standardized training. *Human Reproduction*, 2002, 17(5):1299-1305.

Björndahl L, Barratt CLR, Mortimer D and Jouannet P. ‘How to count sperm properly’: checklist for acceptability of studies based on human semen analysis. *Human Reproduction*, 2015, 0(0):1-6.

Björndahl L, Barratt CLR, Mortimer D and Jouannet P. ‘How to count sperm properly’: checklist for acceptability of studies based on human semen analysis. *Human Reproduction*, 2016, 31(2):227-232.

Björndahl L, Mortimer D, Barratt CLR, Castilla JA, Menkveld R, Kvist U, Alvarez JG, Haugen TB. Basic physiology. In: *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. Cambridge University Press, 2010a: 5-31.

Björndahl L, Mortimer D, Barratt CLR, Castilla JA, Menkveld R, Kvist U, Alvarez JG, Haugen TB. Sperm function tests. In: *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. Cambridge University Press, 2010b: 113-146.

Björndahl L, Mortimer D, Barratt CLR, Castilla JA, Menkveld R, Kvist U, Alvarez JG, Haugen TB. Basic semen analysis. In: *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. Cambridge University Press, 2010c: 33-75.

Björndahl L, Mortimer D, Barratt CLR, Castilla JA, Menkveld R, Kvist U, Alvarez JG, Haugen TB. Basic semen analysis. In: *A Practical Guide to Basic Laboratory Andrology*. Cambridge University Press, 2010d: 165.

Bland MJ, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1986, (1):307–310.

Brown S. ESHRE – The first 21 years. 2005. <https://www.eshre.eu/Home/About-us/History.aspx>

Bruning G, Dierichs R, Stümpel C and Bergmann M. Sertoli cell nuclear changes in human testicular biopsies as revealed by three dimensional reconstruction. *Andrologia*. 1993, (25):311-316.

Caprio F, De Franciscis P, Trotta C, Ianniello R, Mele D, Colacurci N. Seminal anti-Müllerian hormone levels during recombinant human follicle-stimulating hormone treatment in men with idiopathic infertility undergoing assisted reproduction cycles. *Andrology*, 2015, (3):843-847.

Caroppo E. Male reproductive medicine: Anatomy and physiology. In: Niederberger C. *An Introduction to Male Reproductive Medicine*, Cambridge University Press, 2011: 1-28.

Cavallini G. Male idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Asian Journal of Andrology*. Blackwell Publishing. 2006, 8(2):143-157.

Coetzee K, Menkveld R. Validation of a new disposable counting chamber. *Archives of Andrology*, 2001, (47):153-156.

Cooper TG and Yeung CH. Physiology of sperm maturation and Fertilization. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S (eds). *Andrology*, 3rd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010: 61-85.

Cooper TG, Jonkenhövel F and Nieschlag E. Variation in semen parameters from fathers. *Human Reproduction*, 1991, 6(6):859-866.

Cornwall GA and Horsten HHV. Sperm maturation in the epididymis. In: Carrell DT (ed). *The Genetics of Male Infertility*, Totowa, New Jersey. Humana Press, 2007: 211-231.

Çelik-Özenci Ç ve Akkoyunlu G. Spermatogenez. İçinde: Demir R (Çeviri editörü). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi*. Histology and Cell Biology. Kierszenbaum AL, 1. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 531-550.

Dunphy BC, Neal LM, Cooke ID. The clinical value of conventional semen analysis. *Fertility and Sterility*, 1989, 51(2):324-329.

De Jonge CJ, Barratt CLR. WHO manual... Who should care? *Human Reproduction*, 1999, 14(10):2431–2433.

De Vos A, Van De Velde H, Joris H, Verheyen G, Devroey P, Van Steirteghem AV. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertility and Sterility*, 2003; 79(1):42–48.

Demir R (Çeviri editörü). Sistemler - Erkek üreme sistemi. İçinde: *diFiore'nin Histoloji Atlası*. diFiore's Atlas of Histology. Eroschenko VP. 12. baskıdan çeviri. Palme Yayıncılık, 2013: 477-504.

Eggert-Kruse W, Schwarz H, Rohr G, Demirakca T, Tilgen W and Runnebaum B. Sperm morphology assesment using strict criteria and male fertility under in-vivo conditions of conception. *Human Reproduction*, 1996, 11(1):139-146.

Eliasson R. Standards for investigation of human semen. *Andrologie*, 1971, 3(2):49-64.

Eroschenko VP. Male reproductive system. *diFiore's Atlas of Histology*, 11th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 409-438.

ESHRE Andrology Special Interest Group. Guidelines on the application of CASA technology in the analysis of spermatozoa. *Human Reproduction*, 1998, 13(1):142-145.

Esteves SC and Agarwal A. The azoospermic male: current knowledge and future perspectives. *Clinics*. Sao Paulo, 2013, 68(1):1–4.

Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ES, Jr and Agarwal A. Critical appraisal of world health organizations new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. *Urology*. Elsevier Inc., 2012, 79(1):16-22.

Esteves SC. Clinical management of infertile men with nonobstructive azoospermia. *Asian Journal of Andrology*, 2015, (17):459-470.

Feedback DL. Organs and system: Male reproductive system. In: *Histology*. Springer-Verlag New York, 1987: 160-166.

Fietz D and Bergmann M. Functional anatomy and histology of the testis. In: Simoni M and Huntaniemi IT (eds). *Endocrinology of the Testis and Male Reproduction*. Springer International Publishing AG, 2017: 313-342.

Fisch H, Goluboff ET, Olson JH, Feldshuh J, Broder SJ and Barad DH. Semen analyses in 1,283 men from the United States over a 25-year period: no decline in quality. *Fertility and Sterility*, 1996, 65(5):009-1014.

Gartner LP and Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*, 3rd ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007: 490-505.

Gartner LP and Hiatt JL. Male Reproductive System. *Concise Histology*. Saunders Elsevier, 2011: 286-303.

Görür S, Çekiç Ç. Anabolizan ilaçlar ve spermatogeneze etkileri. *Androloji Bülteni*, 2014, (56):38-43.

Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisneros P, Steinkampf MP, Hill JA, Xu D, Phil M, Vogel DL. Sperm morphology, motility and concentration in fertile and infertile men. *The New England Journal of Medicine*, 2001, 345(19):1388-1393.

Güvel S. Kadın ve erkek genital anatomisindeki benzerlikler. *Androloji Bülteni*, 2013, (52):57-61.

Hardy MP, Ge R. Regulation of Leydig cells during pubertal development. In: Payne AH and Hardy MP (eds). *The Leydig Cell in Health and Disease*. Humana Press, Totowa, 2007: 55-70.

Healy JC. Abdomen And Pelvis. In: Standring S (ed). *Gray's Anatomy, The Anatomical Basis of Clinical Practice*, 40 nd ed. London Elsevier, 2008, 76:1272-1287.

Heffner LJ, Schust DJ. Gross anatomy of the male reproductive tract. In: *The Reproductive System at a Glance*, 4 th ed. John Wiley & Sons Ltd., 2014d: 22-23.

Heffner LJ, Schust DJ. Male reproductive physiology. In: *The Reproductive System at a Glance*, 4 th ed. John Wiley & Sons Ltd., 2014c: 34-35.

Heffner LJ, Schust DJ. Microscopic anatomy of the male reproductive tract. In: *The Reproductive System at a Glance*, 4 th ed. John Wiley & Sons Ltd., 2014b: 24-25.

Heffner LJ, Schust DJ. Steroid hormone biosynthesis. In: *The Reproductive System at a Glance*, 4 th ed. John Wiley & Sons Ltd., 2014a: 12-13.

Holstein AF, Schulze W and Davidoff M. Basic Physiology - Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. In: *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2003, 1(107):1-16.

Imade GE, Towobola OA, Sagay AS, Otubu JAM. Discrepancies in sperm count using improved Neubauer, Makler, and Horwells counting chambers. *Archives of Andrology*. 1993, 31(1):17-22.

Jequier AM. The analysis of semen. *Male Infertility a Guide for the Clinician*. Blackwell Science. 2000: 41-80.

Jequier AM and Ukombe EB. Errors inherent in the performance of a routine semen analysis. *British Journal of Urology*, 1983, (55):434- 436.

Johanisson E, Campana A, Luthi R and Agostini A. Evaluation of “round cells” in semen analysis: a comparative study. *Human Reproduction*. 2000, 6(4):404-412.

Johnson L, Varner DD, Roberts ME, Smith TL, Keillor GE, Scrutchfield WL. Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Animal Reproduction Science*, 2000, (60-61):471-480.

Johnson MH, Setchell BP. Protein and immunoglobulin content of rete testis fluid of rams. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1968, (17):403-406.

Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Giwercman A, Kopa Z, Krausz C, Tournaye H. Guidelines for the investigation and treatment of male infertility. *European Urology*. 2010: 157-169.

Junqueira LC, Carneiro J. *Basic Histology Text & Atlas*, 10 th ed. North America, Mcgraw Hill, 2003: 431-441.

Kalthur SG, Kalthur G. Anatomy and Development of the Male Reproductive System. In: Gunasekaran K, Pandiyan N (eds). *Male Infertility A Clinical Approach*. Chennai, Springer India, 2017: 1-16.

Kamel RM. Management of the infertile couple: an evidencebased protocol. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2010, 8(21):1-7.

Kierszenbaum AL, Tres LL. The reproductive system. In: *Histology and Cell Biology*, 4 th ed. Elsevier, 2015: 611-642.

Kruger TF, Ackerman SB, Simmons KF, Swanson RJ, Brugo SS, Acosta AA. A quick, reliable staining technique for human sperm morphology. *Archives of Andrology*, 1987, 18(3):275-277.

Kruger TF, Franken DR. *Atlas of Human Sperm Morphology Evaluation*, 1st ed. London, Informa Healthcare Press, 2009: 49-83.

Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, Van Zyl JA. Sperm morphological features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 1986, 46(6):1118-1123.

Kusz-Zamelczyk K, Ginter-Matuszewska B, Sajek M and Jaruzelska J. Gene Mutations associated with male infertility. In: Bashamboo A and McElreavey (Eds). *Male Infertility*. 2012: 21-50.

Lannou DL, Griveau JF, Pichon JP and Quero JC. Effects of chamber depth on the motion pattern of human spermatozoa in semen or in capacitating medium. *Human Reproduction*, 1992, 7(10):1417-1421.

Liu DY, Baker HWG. Disordered zona pellucida-induced acrosome reaction and failure of in-vitro fertilization in patients with unexplained infertility. *Fertility and Sterility*, 2003, 79(1):74-80.

Ludwig G and Frick J. Ejaculate analysis (Spermiograms). *Spermatology Atlas and Manual*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1987: 3-43.

MacLeod J and Gold RZ. The male factor in fertility and infertility - Semen quality and certain other factors in relation to ease of conception. *Fertility and Sterility*, 1953, 4(1):10-33.

MacLeod J and Hotchkiss RS. The distribution of spermatozoa and of certain chemical constituents in the human ejaculate. *The Journal of Urology*, 1942, 48(2):225-229.

Mahmoud AMA, Depoorter B, Piens N and Comhaire FH. The performance of 10 different methods for the estimation of sperm concentration. *Fertility and Sterility*, 1997, 68(2):340-345.

Majzoub A and Sabanegh E. Diagnostic tests in the evaluation of male infertility. In: Agarwal A, Gupta S and Sharma R (eds). *Andrological Evaluation of Male Infertility – a Laboratory Guide*. Springer International Publishing AG Switzerland, 2016: 1-10.

Makler A. A new chamber for rapid sperm count and motility estimation. *Fertility and Sterility*, 1978, 30(3):313-318.

Makler A. The improved ten-micrometer chamber for rapid sperm count and motility evaluation. *Fertility and Sterility*, 1980, 33(3):337-338.

Mann T and Lutwak-Mann C. Male reproductive function and the composition of semen: General considerations. In: *Male Reproductive Function and Semen*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 1981a: 1-37.

Mann T and Lutwak-Mann C. Testis and testicular semen: Spermatogenesis. In: *Male Reproductive Function and Semen*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 1981b: 83-90.

Matson P, Irving J, Zuvela E and Hughes R. Delay in the application of the cover glass is a potential source of error with the Makler Counting Chamber. *Fertility & Sterility*, 1999, (72):559–561.

Menkveld R. Urogenital infection and std - Sperm morphology in male urogenital tract infections. In: Björndahl L, Giwercman A, Tournaye, H and Weidner W (eds). *Clinical Andrology*. Informa Healthcare, 2010: 309-316.

Mescher AL. The male reproductive system. In: *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*, 13th ed. McGraw Hill Education, 2013: 445-448.

Michigan Histology and Virtual Microscopy Learning Resources, <http://histology.medicine.umich.edu/resources/male-reproductive-system#v-prostate-gland> 01.04.2019.

Michigan Histology and Virtual Microscopy Learning Resources, <http://histology.medicine.umich.edu/sites/default/files/slide275orientation.jpg> 02.04.2019.

Michigan Histology and Virtual Microscopy Learning Resources, http://141.214.65.171/Histology/Male%20Reproductive%20System/286_HISTO_40_X.svs/view.apml 03.04.2019.

Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. First week of human development. In: *The Developing Human – Clinically Oriented Embryology*, 9 th ed. Saunders Elsevier, 2013: 13-19.

Mortimer D and Menkveld R. Sperm morphology assessment - Historical perspectives and current opinions. *Journal of Andrology*, 2001, 22(2):192-205.

Mortimer D, Pandya IJ, Sawers RS. Relationship between human sperm motility characteristics and sperm penetration into human cervical mucus in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1986, (78):93-102.

Mortimer D, Shu MA, Tan R and Mortimer ST. A technical note on diluting semen for the haemocytometric determination of sperm concentration. *Human Reproduction*, 1989, 4(2):166-168.

Moss JL, Keeter MK and Brannigan RE. History and physical examination: male infertility. In: Garrido N and Rivera R (eds). *A Practical Guide to Sperm Analysis: Basic Andrology in Reproductive Medicine*. CRC Press, 2017: 9-14.

NAFA and ESHRE-SIGA. Sperm motility. *Manual on Basic Semen Analysis*, 2002: 14-17.

Neuwinger J, Behre HM, Nieschlag E. External quality control in the andrology laboratory: an experimental multicentre trial. *Fertility and Sterility*, 1990, 54(2):308-314.

Nieschlag E. Scope and goals of andrology. In: Nieschlag E, Behre HM and Nieschlag S (eds). *Andrology*, 3 rd ed. Springer- Verlag Verlin Heidelberg, 2010:1-10.

Noort MH, Puijk WC, Schaaper WMM, Kuperus D, Beekman NJCM, Plasman HH, Grootegoed JA, Meloen RH. Development of antagonists and agonists of follicle stimulating hormone. In: Nieschlag E, Habenicht UF (eds). *Schering Foundation*

Workshop 4 – Spermatogenesis Fertilization Contraception, 1 st ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1992: 33-55.

O'Rourke DM, Allen DC. Urological specimens - Penis. In: Allen DC and Cameron RI (eds). *Histopathology Specimens*, 3 rd ed. Springer International Publishing AG, 2017b: 379-390.

O'Rourke DM, Allen DC. Urological specimens - Testis, epididymis and vas. In: Allen DC and Cameron RI (eds). *Histopathology Specimens*, 3 rd ed. Springer International Publishing AG, 2017a: 363-368.

Oehninger S. An update on the laboratory assessment of male fertility. *Oxford University Press*, 1995, 10(1):38-45.

Ombelet W, Menkveld R, Kruger TF and Steeno O. Sperm morphology assessment: historical review in relation to fertility. *Human Reproduction*, 1995, 1(6):543-557.

Omu AE. Sperm parameters: paradigmatic index of good health and longevity. *Medical Principles and Practice*, 2013, 22(1):30-42.

Orgebin-Crist MC. Studies on the function of the epididymis. *Biology of Reproduction*, 1969, (1):155-175.

Parks JE, Lee DR, Huang S and Kaproth MT. Prospects for spermatogenesis in vitro. *Science Direct*, 2003, (59):73-86.

Polat S. Ürogenital Sistem. İçinde: Dalçık H, Yıldırım M. (Çeviri editörü). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology, Moore KL, Persaud TVN (eds). 8. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 262-268.

Pound N, Javed MH, Ruberto C, Shaikh A and Valle APD. Duration of sexual arousal predicts semen parameters for masturbatory ejaculates. *Physiology & Behavior*. Elsevier, 2002, (76):685-689.

Prince FP. The human leydig cell. In: Payne AH and Hardy MP (eds). *The Leydig Cell in Health and Disease*. Humano Press, Totowa, 2007: 71-89.

Raleigh D, O'Donnell L, Southwick GJ, Kretser DM, McLachlan RI. .Stereological analysis of the human testis after vasectomy indicates impairment of spermatogenic efficiency with increasing obstructive interval. *Fertility and Sterility*, 2004, (81):1595–1603.

Riva A and Aumüller G. Morphology and functions of the human seminal vesicle. In: *Andrologia*, 1992, (24):183-196.

Robinson C, Roberts P and Matson P. Sperm motility assessment using computer assisted semen analysis (CASA): a comparison of standard microscope slides and coverslips and the 20 µl MicroCell™. *J Reprod Stem Cell Biotechnology*, 2018, (7):1-8.

Rogers K (ed.). Anatomy of the human reproductive system. *The Reproductive System*, 1st ed. Rosen, 2011: 27-31.

Sabanegh E and Agarwal A. Male infertility. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Novick AC and Peters CA. *Campbell-Walsh Urology*, USA. Elsevier Saunders, 10 th ed. 2012: 616-647.

Sadler TW. *Langman's Medikal Embryology*. Başaklar AC (çeviri editörü). Langman Medikal Embriyoloji, 11. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2011: 27-31.

Sadler TW. *Langman's Medikal Embryology*. Başaklar AC (çeviri editörü). Langman Medikal Embriyoloji, 11. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2011: 246-251.

Setchell BP, Scott TW, Voglmayr JK, Waites GMH. Characteristics of testicular spermatozoa and the fluid which transports them into the epididymis. *Biology of Reproduction*, 1969, (1):40-66.

Setchell BP. Secretions of the testis and epididymis. In: *Journal of Reproduction and Fertility*, 1974, (37):165-177.

Sifer C, Sasportes T, Barraud V, Poncelet C, Rudant J, Porcher R, Cedrin-Durnerin I, Martin-Pont B, Hugues JN and Wolf JP. World Health Organization grade 'a' motility and zona-binding test accurately predict IVF outcome for mild male factor and unexplained infertilities. *Human Reproduction*, 2005, 20(10):2769-2775.

Sikka SC and Hellstrom WJG. Current updates on laboratory techniques for the diagnosis of male reproductive failure. *Asian Journal of Andrology*, 2016, (18):392-401.

Skinner M. Sertoli cell-somatic cell interactions. In: Skinner MK and Griswold MD. *Sertoli Cell Biology*, USA. Elsevier Science, 2005: 317-328.

Solakoğlu S, Aytekin Y (çeviri editörleri). Erkek üreme sistemi. İçinde: *Temel Histoloji Text & Atlas*. Basic Histology Text & Atlas. Junqueira LC and Carneiro J (eds), 9 th ed. Nobel Tıp Kitabevi, 2009; 418-434.

Sukcharoen N, Ngeamjirawat J, Chanprasit Y, Aribarg A. A comparison of makler counting chamber and improved Neubauer hemocytometer in sperm concentration measurement. *Journal of Medical Association of Thailand*, 1994, 77(9):471-476.

Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *Androloji Bülteni*, 2009, (37):131-136.

Tomar AK, Sood BS, Singh S and Yavad S. Differential proteomics of human seminal plasma: A potential target for searching male infertility marker proteins. *Clinical Proteomics Journal*, 2012, (6):147-151.

Tomlinson M, Turner J, Powell G and Sakkas D. One-step disposable chambers for sperm concentration and motility assessment: how do they compare with the World Health Organization's recommended methods? *Human Reproduction*, 2001, 16(1):121-124.

Tomlinson M. Is your andrology service up to scratch? *Human Fertility*, 2010, 13(4): 194-200.

Turek PJ. Male reproductive physiology. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Novick AC and Peters CA. *Campbell-Walsh Urology*, USA. Elsevier Saunders, 10 th ed. 2012: 591-615.

Varghese A, Deepinder F, Chandra A, Jeat AW, Pathan F, Agarwal A. Male reproductive system, Anatomy and physiology; Anatomy and physiology of male gametogenesis. In: Rao KA, Agarwal A, Srinivas MS (eds). *Andrology Laboratory Manual*, First edition. JP medical publishers, 2010: 3-10.

Van den Bergh M, Emiliani S, Biramane J, Vannin AS, Englert Y. A first prospective study of the individual straight line velocity of the spermatozoon and its influences on the fertilization rate after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, 1998, (13):3103-3107.

Walczak-Jedrzejowska R, Marchlewska K, Oszukowska E, Filipiak E, Bergier L and Slowikowska-Hilczer J. Semen analysis standardization: is there any problem in Polish laboratories? *Asian Journal of Andrology*, 2013, (15):616-621.

Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. Physiology of testicular function – Functional organization of the testis. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S (eds). *Andrology*, 3rd ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010: 11-21.

WHO Infertility – A tabulation of available data on prevalence of primary and secondary infertility. *Mondiale De La Sante*, 1991.

WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Cambridge, Cambridge University Press, 2010.

WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. 1st ed. Singapore, Press Concern, 1980.

WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1999.

WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge, Cambridge University Press, 2000.

Yan Cheng C and Mruk DD. The blood-testis barrier and its implications for male contraception. *Pharmacological Reviews*, 2012, 64(1):16-64.

Yanagida K, Hoshi K, Sato A and Burkman L. Automated semen analysis shows an increase in sperm concentration and motility with time in Makler chambers having excess sample volume. *Human Reproduction*, 1990, 5(2):193-196.

Yanagimachi R. Sperm-egg association in mammals. In: Moscona AA and Monroy A (eds). *Current Topics in Developmental Biology*, 1978, (12):83-105.

Yoshida K, Kawano N, Yoshiike M, Yoshida M, Iwamoto T and Morisawa M. Physiological roles of semenogelin I and zinc in sperm motility and semen coagulation on ejaculation in humans. *MHR-Basic Science of Reproductive Medicine*, 2008, 14(3):151-156.

Zamboni L and Stefanini M. The fine structure of the neck of mammalian spermatozoa. *Anatomical Record.*, 1971, (169):155-172.

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Elif DURMUŞ
Doğum tarihi	: 29.05.1989
Doğum yeri	: Samsun
Medeni hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, 10600 Balıkesir
Tel	: 0544 2669218
Faks	: -
E-mail	: drmseliif@gmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Ondokuz Mayıs Lisesi (2006)
Lisans	: Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (2008-2013)
Yüksek lisans	: Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (2014- devam)
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	: Orta derecede
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR	
	Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği

EK-2. ETİK KURUL ONAYI

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	BALIKESİR ÜNİV. TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ	Çağış Yerleşkesi, Uşak yolu üzeri, 10145 BALIKESİR
	TELEFON	0266 612 14 61/1122
	FAKS	0266 612 14 59
	E-POSTA	etik.bautip@gmail.com

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatlarda Sayım ile Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri		
BAŞVURU BİLGİLERİ	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Fatma Bahar SUNAY	
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı	
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi	
	DESTEKLEYİCİ		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	<input checked="" type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	<input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>	
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>	
	DIĞER:	<input type="checkbox"/>	

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2016/105	Tarih: 19/10/2016
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.	
Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E	K	E	H	E	H	
Doç. Dr. Fuat EREL	Göğüs Hastalıkları	Balıkesir Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Gülten ERKEN	Fizyoloji	Balıkesir Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Esin SÖĞÜTLÜ SARI	Göz Hastalıkları	Balıkesir Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. F. Bahar SUNAY	Histoloji ve Embriyoloji	Balıkesir Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Elif AKSÖZ	Tıbbi Farmakoloji	Balıkesir Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm.Dr. Mehmet ÇALIŞKAN	Halk Sağlığı	Balıkesir KEAS Organize Sanayii	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Av. Mustafa Tuğrul MENÇE	Avukat	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Ecz. Hüsnü KUNDAKÇI	Eczacı	BAÜ Sağlık Uyg. ve Araştırma Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Serhat ALDEMİR		BEST A.Ş.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının:

Unvanı, Adı Soyadı: Doç.Dr. Fuat EREL

İmza:

EK-3. ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatlarda Sayım ile Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ

Araştırma amacıyla yapılan bu çalışmaya davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

1) Çalışmanın amacı nedir?

Kısırlık görülme sıklığı giderek artan bir sağlık sorunudur. Erkeklerde kısırlığa yönelik en sık kullanılan tanı yöntemi spermiyogram testidir. Spermiyogram testinde hastadan elde edilen meni (cinsel salgı) içerisindeki üreme hücrelerinin hareketliliği incelenir. Bu incelemede farklı yöntemler kullanılabilir. Bu çalışmanın amacı meni içerisindeki spermilerin hareketliliğini belirlemede kullanılan iki farklı yöntemi karşılaştırmak ve sonuçları arasındaki uyumu incelemektir.

2) Katılma koşulları nedir?

Bu çalışmaya dahil edilmeniz için doktorunuzun onayı yeterlidir.

3) Nasıl bir uygulama yapılacaktır?

Normalde spermiyogram tetkikiniz için Androloji Laboratuvarına verdiğiniz menide gerekli incelemeler yapıldıktan sonra artan 2-4 ml hacimli meni tıbbi atık olarak çöpe atılmaktadır. Bu çalışmaya katılmayı kabul etmeniz durumunda çöpe atılan bu sıvının bir su damlası kadarlık miktarı üreme hücrelerinizin hareketliliğini belirlemek için kullanılacaktır.

4) Sorumluluklarım nedir?

Araştırma ile ilgili olarak herhangi bir sorumluluğunuz bulunmamaktadır.

5) Katılımcı sayısı nedir?

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı yaklaşık 100'dür.

6) Katılımım ne kadar sürecektir?

Bu araştırma için katılımınız sadece örnek verme süreniz ile sınırlıdır.

7) Çalışmaya katılma ile beklenen olası yarar nedir?

Çalışmaya katılmanız size doğrudan bir yarar sağlamayacaktır. Ancak bu çalışmadan elde edilecek sonuçların spermiyogram tetkiki istenen erkek hastalarda tahlilin daha güvenilir yapılmasını sağlama olasılığı bulunmaktadır.

Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatlarda Sayım ile Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri

8) Çalışmaya katılma ile beklenen olası riskler nelerdir?

Çalışmaya katılmaz durumunda sizi bekleyen olası bir risk bulunmamaktadır.

9) Hangi koşullarda araştırma dışı bırakılabilirim?

Araştırma dışı bırakılmanıza neden olacak herhangi bir durum yoktur.

10) Yeni bulgular

Araştırma sürecinde yapılan uygulamaya yönelik sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir.

11) Araştırma süresince çıkabilecek sorunlar için kimi aramalıyım?

Araştırma haklarınız veya araştırmayla ilgili herhangi bir soru için daha fazla bilgi temin edebilmeniz için **0 505 663 42 87** numaralı telefondan **Dr. F. Bahar Sunay** ile günün 24 saatinde erişime geçebilirsiniz.

12) Çalışma kapsamındaki giderler karşılanacak mıdır?

Bu çalışma için gerekli tüm masraflar araştışıcılar tarafından karşılanacaktır. Çalışma için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecektir.

13) Araştışmaya katılmayı kabul etmemem veya araştışmadan ayrılmam durumunda ne yapmam gerekir?

Araştışmaya katılmak tamamen **gönüllülük** esasına dayanmaktadır. Çalışmaya **katılmama** veya katıldıktan sonra herhangi bir anda çalışmadan **çıkma** hakkına sahipsiniz. Her iki durumda da bir ceza veya hakkınız olan yararların kaybı kesinlikle söz konusu olmayacaktır.

14) Katılmama ilişkin bilgiler konusunda gizlilik sağlanabilecek midir?

Size ait tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir. Ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurular ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

ÇALIşMAYA KATILMA ONAYI

Yukarıda yer alan ve çalışmaya başlamadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren 3 sayfalık metni okudum. Aklıma gelen tüm soruları araştışmacıya sordum, bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştışmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatlarda Sayım ile Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri

" Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparatlarda Sayım ile Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri" başlıklı araştırma kapsamında kullanılan meni örneğimin

() Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.

() Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Gönüllünün (Kendi el yazısı ile)

Adı-Soyadı:

İmzası:

Adresi:

Telefon No, Faks No:

Tarih (gün/ay/yıl): .../.../....

Açıklamaları Yapan Araştırıcının (Doktorun)

Adı-Soyadı:

İmzası:

Tarih (gün/ay/yıl):.../.../.....

Onay Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Eden Kuruluş

Görevlisinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Görevi:

Tarih (gün/ay/yıl):...../...../.....