

Semen Analizi: Morfolojik Yaklaşım

Dr. Hakan ÖZDENER*

Semen analizi, erkek fertilizasyonunun araştırılmasında "yol gösterici" bir yöntemdir. Ülkemizde, fertilizasyona yönelik teşhisin konulması ve tedavi protokolünün düzenlenmesi amacıyla en çok istenen laboratuvar çalışması "Semen Analizi"dir. Spermatogenezis ile testislerin steroidogenetik fonksiyonları ve ikincil seks karakterlerinin fonksiyonel durumu hakkında bilgi verir (1,2). Fakat ülkemizde semen analizi genellikle sperm sayısı, şekli ve hareketliliğin tesbiti amacıyla kullanılmaktadır. Bu derleme yazımız ile semen analizi ile ilgili en son bilgileri bir araya toplayarak gerek laboratuvar çalışmaları ve gerekse konuyla ilgilenen diğer araştırmacıların istifadesine sunmak istedik. Semen analiz çalışmalarını başlıca Biyokimyasal, Mikrobiyolojik ve immünolojik olmak üzere sınıflandırmak gerekmektedir. Tüm bu çalışmaların başlangıcında ejakulat toplanması önemli bir yer tutmaktadır.

Ejakulat Toplanması

Ejakulatın toplanmasında en güvenilir ve kabul edilir yol "masturbasyon"dur. Çünkü ejakulatın tamamı yalnızca masturbasyonla toplanabilmektedir. Eğer psikolojik nedenler veya inançlardan dolayı masturbasyon yapılamıyor ise özel olarak dizayn edilmiş prezervatifler (Milex Limited, Toronto, Ontario, Canada) kullanılabilir (3). Doğum kontrol amacı ile kullanılan prezervatifler antispermatik etkiye sahip olduğundan tercih edilmemelidir (1, 2). Geri çekme-boşalma (Coitus interruptus) tekniğinin ejakulatın toplanmasındaki güvenilirliği azdır (1, 2, 4, 5). Sperm hücreleri ejakulat içinde uniform dağılmadığı için (Tablo 1) numune kaybı yanlış sonuç verebilir. Numunenin toplanacağı plastik kap geniş ağızlı ve temiz olmalı, klinisyen veya laboratuvar tarafından sağlanmalıdır.

Klinik veya laboratuvarında uygun ortam mevcut ise numunenin buralarda alınması en uygundur. Uygun koşullar yok ise numune evden de getirilebilir (1, 2, 3). Ev ile laboratuvar arasındaki süre 45 dakikadan az

olmalı, çok özel durumlarda ise 2 saati geçmemelidir (8). Ejekulat "vücut ısısında" muhafaza edilerek taşınmalıdır. Numune laboratuvara ulaşınca "hastanın adı soyadı, tarih, toplanma zamanı, kaç gün cinsel perhizde bulunduğu" etiketle kabın üstüne yapıştırılmadır.

Cinsel Perhiz

Cinsel ilişki kurulmadan geçen dönemdir. Sperm sayısı ile cinsel perhiz süresi arasında ilişki mevcuttur. Bu dönemde en çok spermatozoal konsantrasyon etkilenmektedir (Tablo 2). Bu sürede sperm motilitesi ve morfolojisi daha az etkilenmektedir. Onbirinci günden sonra spermatozoa sayısındaki artış ortadan kalkmaktadır. Sperm sayısı sağlıklı bireylerde de farklı zamanlarda, farklı bulunmuştur. Sağlıklı gönüllü bireyde iki yıl boyunca yapılan bir çalışmada ateşli hastalık ve ilaç kullanma öyküsü olmadan iki haftada bir alınan numunede semen sayısı 5 ila 170 $10^6/ml$ arasında değişmiştir (2).

Teşhis ve tedaviye başlamadan önce, iki veya dört defa semen analizi yapmak gerekmektedir. İki numune arasındaki cinsel perhiz süresi ortalama 4 gün olmalı ve arada enaz 6 haftalık boşluk bırakılmalıdır. Bu süre spermatogenezis siklusunun gerçekleşmesi için "Fizyolojik Boşluk" olarak öngörülmektedir (2).

EJEKULATIN ÖZELLİKLERİ

Görünüş ve Koku

Taze ejakulat gri-beyaz opalesan görünümündedir. Cinsel perhiz süresi uzadıkça rengi sarıya döner. Ayrıca, renk değişikliği muhtemel üriner sistem patolojileri ile ilişkili olabilir (Tablo 3), (2).

Semen, kendine özgü "Kestane Çiçeği" kokusundadır (2). Bu koku muhtemelen semen içerisindeki "Diamin Oksidaz" enzimidaki aldehid grubundan kaynaklanmaktadır (1).

* Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD, SAMSUN

Tablo 1. Ejekulat içeriğinin dağılımı (4).

- 1- Ejekülasyon öncesi: Bulbo-üretal ve/veya uretral bezden salgılanan açık renkli bir veya iki damla sıvı
- 2- Ejekülasyonun ilk kısmı: Prostatik kökenli ve spermden sınırlı
- 3- Ejekülasyonun orta kısmı: Spermden çok zengin, testis, epididimis ve vas deferens salgısı
- 4- Ejekülasyonun son kısmı: Seminal vezikül sekresyonu

Tablo 2. Cinsel perhiz süresi ve sperm sayısı arasındaki ilişki (2)

Perhiz Süresi	Ortalama Sperm Sayısı (10 ⁷ /ml)	Perhiz Süresi	Ortalama Sperm Sayısı (10 ⁷ /ml)
1.Gün	13	8. "	105
2. "	31	9. "	196
3. "	53	10. "	227
4. "	82	11. "	166
5. "	86	12. "	146
6. "	96	13. "	152
7. "	87	14. "	161

Tablo 3. Sperm renk değişikliği ve muhtemel üreter patoloji

Semen Rengi	içerik	Muhtemel Tanı
Beyaz veya sarı	Lökosit	Enfeksiyon
Kırmızı	Eritrosit	Üreter sistem kanaması

Tablo 4. En sık rastlanılan sperm başı şekilleri

- 1-Oval, 2-Geniş, 3-Küçük, 4-Gittikçe incelen,
- 6- Çift başlı veya kuyruklu, 6- Amorf hücreler

Hacim

Ejekulat, Seminal Plazma ve Spermatozoa olmak üzere iki kısımdan oluşur: Seminal plazma, seminal vezikül, prostat, vas deferens, ampulla, Covvper (bulbo urethral) ve Littre bezleri sekresyonlarını içerir (Tablo 1). İnsan ejakülasyonunun ilk kısmında sperm sayısı sınırlıdır. Sperm, daha çok sitrik asitten zengin prostatik sıvı içerisindedir. Ejekülasyonun son fraksiyonu ise seminal veziküllerden salgılanan fruktoz yönünden zengindir (1, 2). Hacim, cinsel perhiz süresi ile ilişkili olmakla birlikte üç günlük cinsel perhizden sonra ortalama ejakulat miktarı 2-5 ml'dir (1, 2, 4, 5). Bu miktar üç günlük cinsel perhizden sonra ortalama semen hacmi 3 ml kabul edilirse içeriğin 1.5-2 ml'si seminal vezikül, 0.5 ml'si prostat, Covvper ve Littre bezlerinden salgılanmaktadır (8). Hacmi 0.5 ve 1 ml altında veya 15-

18 ml'den fazla ise patolojiktir (6). Bir mililitreden az, beş mililitreden fazla volümlü ejakulatlarda mililitreye düşen sperm sayısı azaldığı için infertilite nedeni olabilmektedir (5).

PH

Seminal plazmanın pH değeri turnusol kağıdı ile ölçülür. Ejekulatın normal pH'sı hafif baziktir (pH 7.5-7.8). Prostatik fraksiyonun pH'sı 7'nin üstündedir. Çeşitli patolojik durumlar seminal plazmanın pH değerini etkiler. Atrofik testislerde, ejakulator kanalların oklüzyonunda veya semenin idrarla kontaminasyonunda pH asitleşir (pH 6.3-6.6). Kronik inflamatuvar hastalıklarda da pH 7.2'nin altına düşebilir. Seminal veziküllerin akut hastalığında veya gecikmiş ölçümlere seminal plazma devamlı CO₂ saldırdığı için pH yükselir (Şekil 1).

Vizkosite

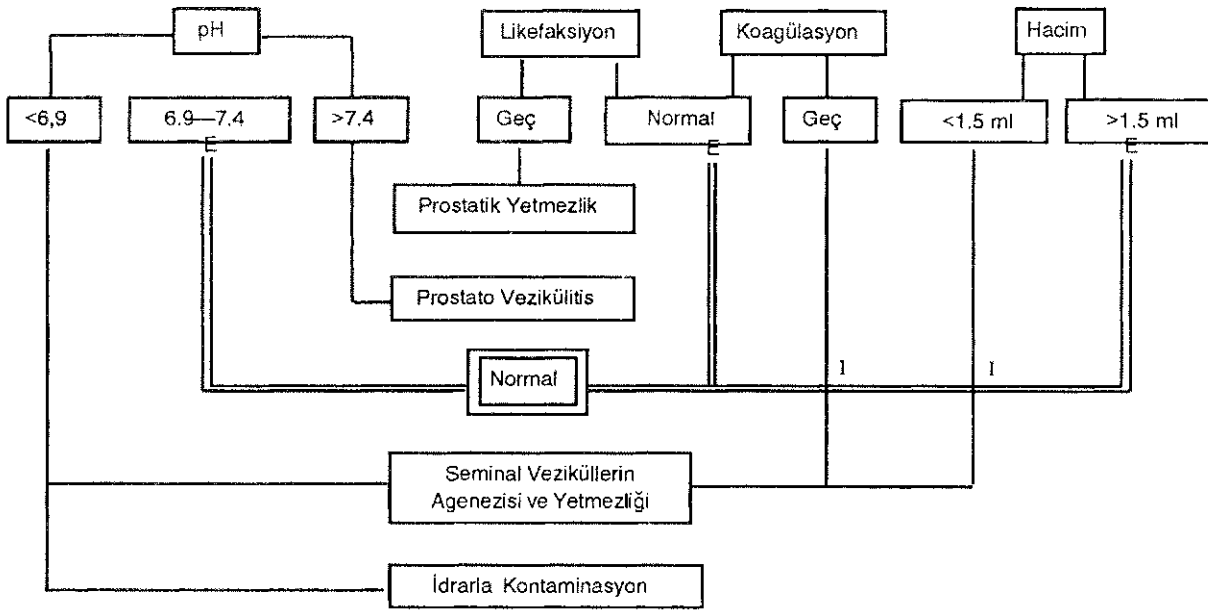
Likefaksiyonu takiben seminal sıvı vizkos hale geçer. Vizkosite ile koagülasyonu birbirine karıştırmamak gerekir. Tek başına infertilite nedeni olmamakla birlikte vizkositenin artması sperm transportunu engeller. Onsekiz numara iğne veya pipet ucundan semenin damlamasına bakılarak 0 ila 4 arasında derecelendirerek vizkosite hakkında karar verilir. (2, 5, 8).

Koagülasyon ve Likefaksiyon

Ejekülasyondan 5 ila 40 dakika sonra (1, 2, 4, 5, 6) semen önce koagüle daha sonra likefiye olur. Bu olayın fizyolojik fonksiyonu tam olarak anlaşılacakla birlikte kan koagülasyonundan farklı mekanizma ile gerçekleştiği bilinmektedir (1). Koagülasyondan vezikül-seminalisten salınan enzimler, likefaksiyondan ise prostat ve covvper bezinin sekresyonundaki proteolitik enzimler sorumludur. Seminal plazma içinde prostatik kökenli likefaksiyondan sorumlu proteolitik enzimler, plazminojen faktörleri ve PSA (Seminin)'dir. Seminal plazma içindeki diğer proteolitik enzimler pepsinojen, lizozim, alfa-amilaz ve hyalürinidaz'dır. Ayrıca bu proteolitik aktiviteyi inhibe edici faktör olarak tripsin, alfa-antitripsin ve alfa-antikimotripsin bulunmaktadır. Prostatik sıvının fibrinolitik aktiviteye sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Likefaksiyondan sonra ejakulat vizkos hale geçer. Hipervizkozite, sperm transportunu geciktirir. Koagülasyonun uzaması ise sperm motilitesini bozar (1, 2, 5).

Mikroskopik İnceleme

Ejekulat likefiye olduktan sonra, vorteks-mikserde on saniye karıştırılıp basit ışık mikroskopunda lam üzerine bir damla ejakulat damlatılıp lamelle üzeri kapatılır. Bu incelemede sperm motilitesi, sayısı ve morfolojik özellikleri ile semen sıvısının içeriği hakkında global bilgi edinilebilir. Ancak ışık mikroskobu çalışmaları çok hassas değildir. Faz kontrast ve elektron mikroskobu çalışmaları çok daha hassastır (2, 3), (Tablo 5).



Şekil 1. Ejekulat biyokimyasal karakterlerinin tanıya yaklaşımı (7).

Morfoloji

Normal bir sperm 3 ila 6 mikron uzunluğunda, 2-3 mikron t dişliğinde oval bir başa sahiptir. Boyun kısmı N ıa b mikron, kuyruk kısmı 50 ila 70 mikron uzunluğundadır (4). Spermatozoanın 70'den fazla şekli tarif edilmekle birlikte bunlardan 6'ına daha sık rastlanılmaktadır.

Sperm başı değişiklikleri testiküler yetmezliğin muhtemel nedenini bulmaya yarayabilir. Araştırmacılar geçici morfolojik anormalliklerin enfeksiyon, travma, varikosel, testiküler stres, ilaç kullanımı ve hormonal dengesizlikler sonucu geliştiğini bildirmişlerdir (2). Sivri başlı ve immatür spermatozoa varikosel ve enfeksiyon sonucu oluşabilir, çift kafalı spermatozoa ise enfeksiyondan çok varikosel için tipiktir. İmmatür hücre sayısı %3'ü geçmemeli, normal şekilli sperm sayısı ise %70'den fazla olmalıdır. Sperm aglütinasyonu ender görülen diğer bir patolojidir. Aglütine olmuş sperm hareketli gözükseler bile aglütinasyonun merkezine yakın kısımlarda ya hareketsizdir veya az hareketlidir. Baş başa, kuyruk kuyruğa ve baş-kuyruk aglütinasyonu olmak üzere üç çeşit aglütinasyon görülür (5). Aglütinasyon oranı %10'dan fazla ise enfeksiyon veya immünojenik problemler düşünülmektedir. Vizkosite normal olduğunda minimal aglütinasyon normaldir (1, 2). Direk mikroskopik incelemede semen sıvısında çok sayıda lökosit görülmesi enfeksiyona, eritrositler ise kanamaya işaret eder. Germinal tabakanın primitif hücrelerini lökositlerden ayırt etmek için hematoksilen boyamak yeterlidir (5, 8). Papanikolau boyası ile hücresel ayrıntılar çok daha iyi ortaya konur (2, 3). Ayrıca direk mikroskopide makrofaj, dev hücreler, sertoli hücreleri, prosta-

tik cisimcikler, testis silenderleri ve bakteriler de görülebilir. İncelemeden önce ejakulat uzun süre bekletilmiş ise Charchot-Leyden kristallerine benzeyen keskin kenarlı sperm fosfat kristalleri ve diğer kristal çeşitlerine de rastlanılabilir (4).

Sperm Sayısı

Döllenmeyi sağlayacak minimal ve ortalama sperm sayısının tesbitinde yazarlar arasındaki anlaşmazlık hala devam etmektedir (1, 2, 4, 5). Fertil popülasyonda yapılan bir çalışmada ortalama sperm sayısı 70-80 milyon/ml bulunmuştur (1). Fertil ve infertil çiftleri karşılaştıran değişik gruplarca yapılan çalışmalarda ise ortalama değer 10 ila 100 milyon/ml arasında bildirilmiştir (2). Görüldüğü gibi sperm sayısı döllenmeyi sağlamada yeterli kriter değildir. Sperm kalitesi azaldıkça gebe kalma şansı azalmaktadır. Her laboratuvarın kendine özgü normal kriterleri olmakla birlikte Tablo 1'deki değerler subfertiliteyi fertiliteden ayırmak için referans değerler olarak kabul edilebilir.

In-vitro fertilizasyonda durum çok daha değişiktir. Fertilizasyon için 50-500 bin sperm yeterli olmaktadır. Histerektomi yapılan kadınla n vagenlerine konulan 5000 spermde bir tanesi ser kal mukusa ulaşabilirken, yine vagene konulan 4 rriiyon spermde ise bir tanesinin kanallara ulaştığı gösterilmiştir (8). Vazektomi yapılmış azospermik şahısların en az iki çocuğa sahip olduğu gösterilmiştir (2).

Sperm hücre sayımı kan sayım işlemine benzerdir. Mikroskopik incelemede eğer hiç sperm görülemiyor veya çok az sperm görülebiliyorsa karar ver-

Tablo 5. Sperm ışık (İM*) ve elektron mikroskop (SEM*) morfolojisi (2)

KARAKTER	% İM*	% SEM*
Normal Sperm Hücresi	(58+15)	(30+21)
Akrozom		
Kısmi Anormal Çekirdek		(2+4)
Kısmi Normal Çekirdek	(0+1)	(9+10)
Agenezis	(0+1)	(0+1)
Eksik		(2+3)
Ekvatorial Segment Hasarı		(1+2)
Ekvatorial Segment Eksikliği		(0+1)
Çekirdek		
Yuvarlak	(1+1)	(1+2)
iri Oval	(6+1)	(0+1)
Ufak Oval	(1+2)	(3+4)
ince	(2+3)	(1+1)
Amorf	(2+1)	(3+3)
Gittikçe incelen	(2+3)	(4+5)
Yumurta şekilli	(0+1)	(4+6)
Çok Çekirdekli	(0+0)	(0+0)
Akrosomal Bölge		
Uzun	(1+2)	(1+2)
Kısa	(0+0)	(0+1)
Geniş (Armut şekilli)	(0+1)	(1+2)
Dar (Ok Başlı)	(1+1)	(2+2)
Hasarlı	(0+1)	(3+3)
Ekvatorial Bölge		
Uzun		(0+0)
Kısa		(9+0)
Hasarlı	(0+1)	(3+5)
Postkrozomal Bölge		
Uzun	(1+2)	(0+1)
Kısa	(0+1)	(7+10)
Geniş (Ok Başlı)	(0+0)	(0+1)
Dar (Armut Biçim)	(3+4)	(9+7)
Hasarlı	(0+0)	(2+3)
Postkrozomal Lamina		
Kısmi		(0+1)
Eksik		(1+3)
Nükleer Kılıf		
Post Nükleer Kist		(5+5)
Boyun		
Hasarlı	(0+1)	(3+5)
Mitokondrial Zarf		
Yokluk		(3+3)
Bütün		(3+4)
Sitoplazma		
Damla Şekil	(6+7)	(3+3)
Kuyruk		
Kafaya Doğru Bükük	(1+2)	(3+5)
Ortaya Doğru Bükük	(2+5)	(7+11)
Aksona Doğru Kırık	(0+0)	(1+2)
Doksan Derece Bükük	(3+2)	(3+6)
Yüzseksen Derece Bükük	(1+1)	(1+1)
Çok Kuyruk	(0+1)	(0+1)
Halka Şekilde		(1+1)

meden önce ejakulat 3000 devirde 3 dakika santrifüj edilerek sediment tekrar incelenmelidir.

T Klin Tıp Bilimleri 1993, 13

Otomatik sayıcılar, kolorimetrik ve fluometrik metodlar ile sperm hücre sayımının gözle saymaya bir üstünlüğü bulunmamıştır. Sperm sayısı alan başına 50.000'den fazla olursa örnek 1/20 dilüe edilerek tekrar sayılmalıdır (5). Sperm sayısı kişiler arasında çok büyük farklılıklar gösterebilir. Ayrıca aynı metaryel aynı teknisyen tarafından ikinci defa sayılsa bile ortalama %20 oranında farklılık olabilir. Bir gönüllüde iki yıl boyunca iki haftada bir alınan ejakulatta yapılan sperm sayısı 5-120 milyon arasında değiştiği tesbit edilmiştir. Bu verilerin ışığında görüldüğü gibi sperm sayılarını anlamlandırmak ve isimlendirmek oldukça zordur.

Azoospermi

Santrifüj edildiği halde mikroskobide sperm hücresi görülmez. Post koital idrar muayenesi tanı için ideal numunedir. Azoospermi etyolojisinde ayırıcı tanısının temelini testisin mevcudiyeti oluşturmakla birlikte spermatogenik yetmezlik, genital yolda herhangi bir düzeyde tıkanma, relatif retrograd ejakulasyon en çok görülen patolojilerdendir (7), (Şekil 2).

Aspermi

Orgazm esnasında ejakulasyon yokluğudur. Ayırıcı tanı ereksiyon varlığına göre düzenlenir. Ereksiyon yokluğunun temel nedenlerinden biri psikojeniktir. İntrakavernöz papaverin »esti ile psikojenik nedenler ekarte edildikten sonra, endokrinopati, multiple skleroz, diabetik nörapati ve anjiopati, pelvik cerrahi, iatrojenik ve bazı antihipertansif ilaçlar akla gelmelidir (7).

Asthenospermi

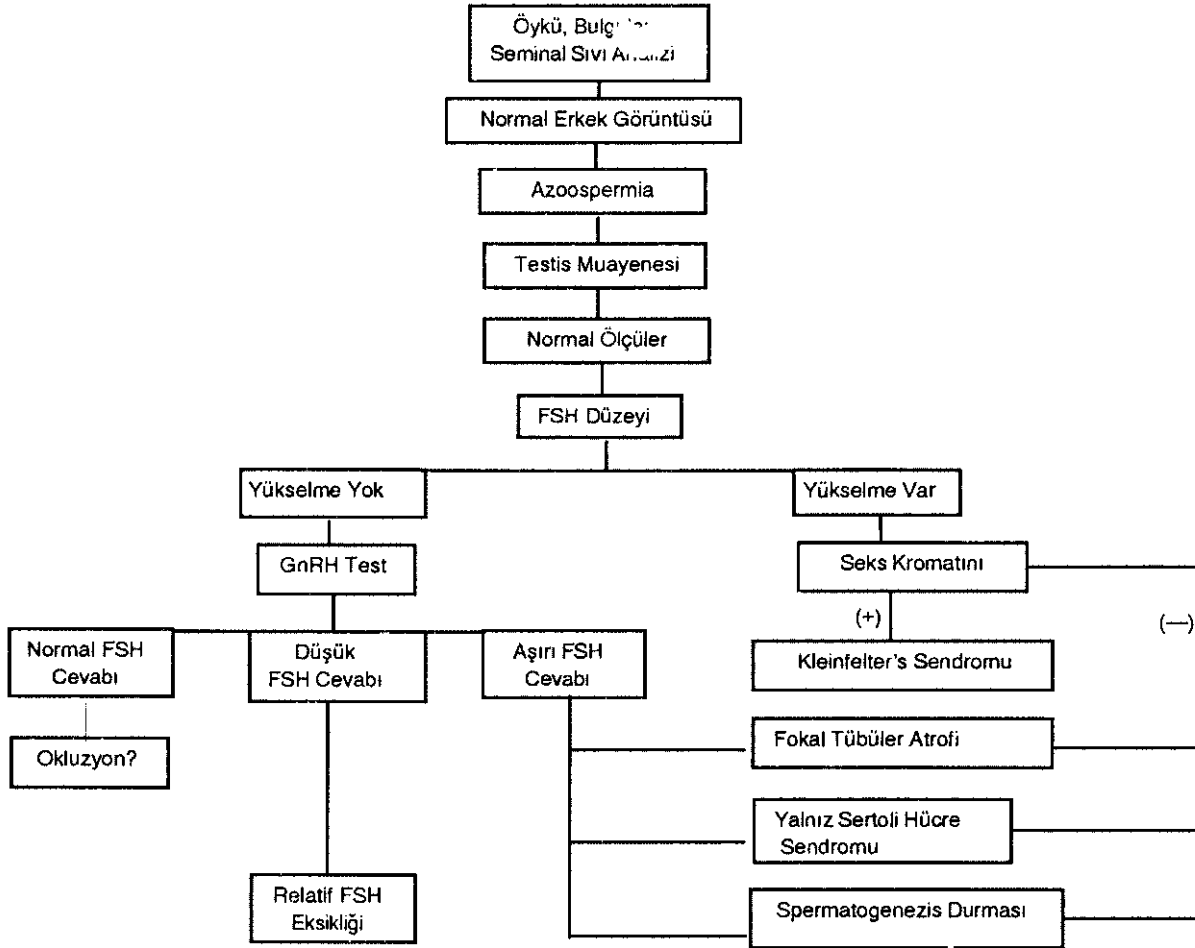
Sperm sayısı ve morfolojisi normal olmasına rağmen herediter motilite eksikliği söz konusudur. Eosin ile boyamada spermalarının çoğu canlı olmasına rağmen hareketsizdirler. Spermilerin hareket bozukluğu mitokondri yokluğu veya kuyruk gelişim bozukluğu ile açıklanmaya çalışılmaktadır (7). Motilite eksikliği Kartagener sendromunda görülmekle birlikte erkek aksesuar seks organlarının infeksiyonları ve immünolojik faktörlerde motilite azlığından sorumlu tutulmaktadır (Şekil 3).

Oligospermi

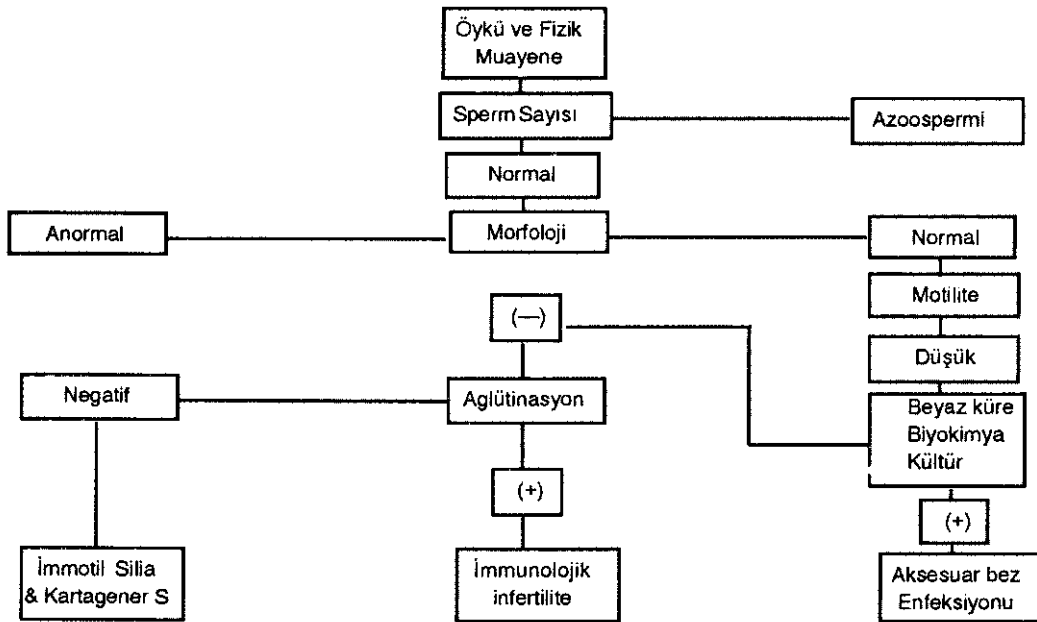
Sperm sayısı ml'de 5-10 milyon veya toplam ejakulatta 15-30 arasındadır. Aşırı oligospermilere sperm sayısı ml'de 5 milyonun altındadır. Orta derecede oligospermilerde neden erkek aksesuar seks organlarındaki enfeksiyonlar ve immünolojik faktörlerdir. Oligospermi nedeni mikroskopik ve biyokimyasal yöntemlerle tesbit edilemezse bilateral testis biopsisi yapılmalıdır (Şekil 2),

Tablo 6. Semen analizi mikroskobisi (8)

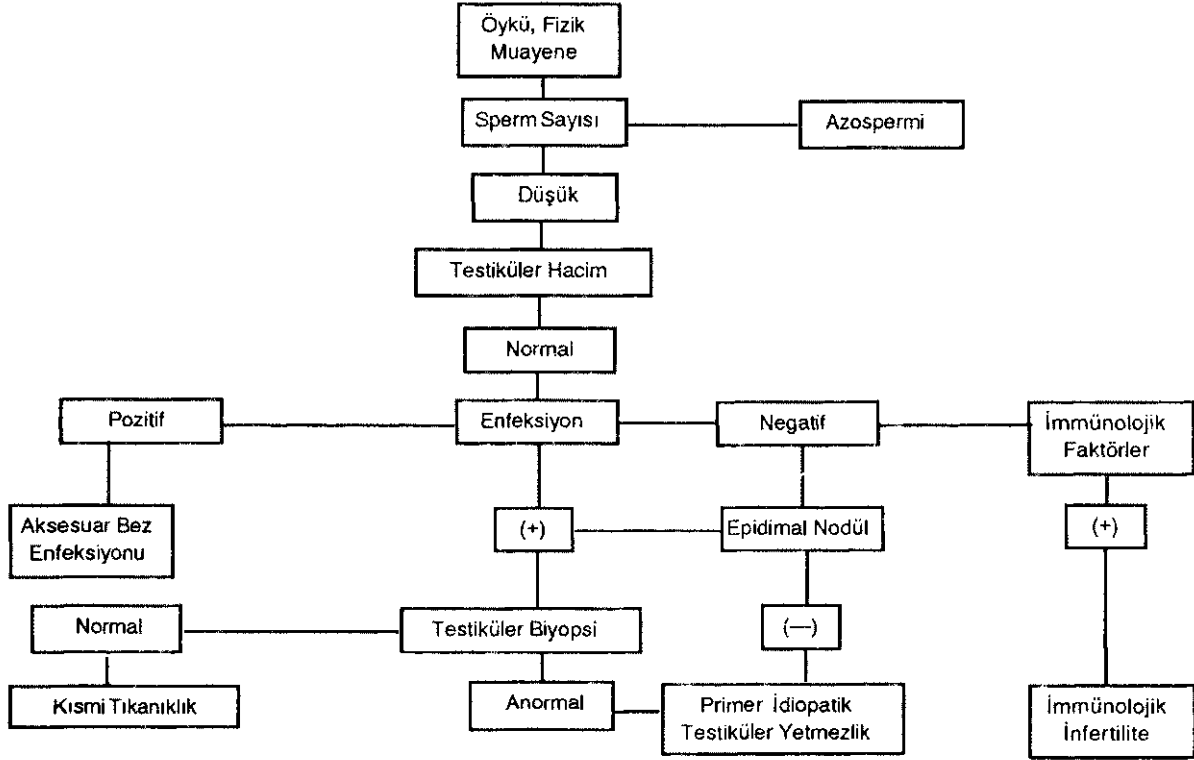
Seminal Volüm	1.5-5 ml
Total Sperm Sayısı	50-60 milyon
Motilite	%60'dan fazla
Morfoloji	%60'dan fazla normal
Hız	+2'den yukarı



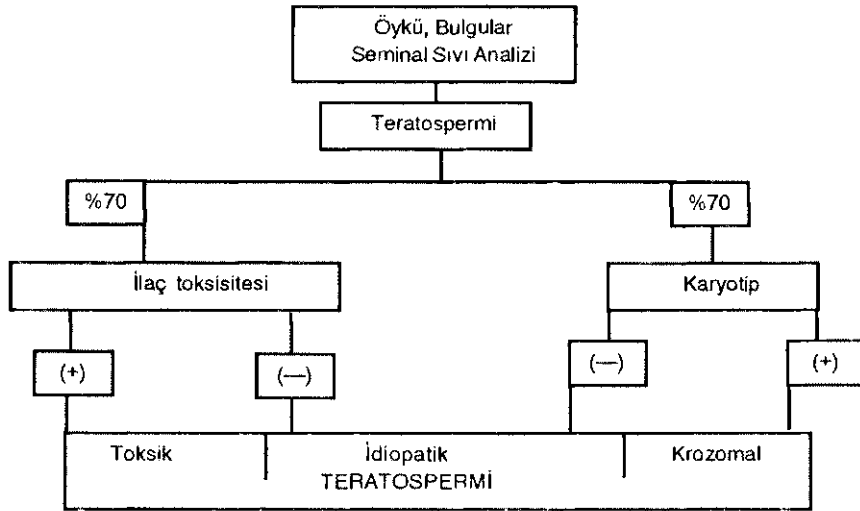
Şekil 2. Normal görünümlü erkek azoospermi araştırılması (7)



Şekil 3. Asthenospermisi olan erkeğe ayırıcı tanıya yaklaşım (7).



Şekil 4. İnfertil oligospermli erkekte ayırıcı tanıya yaklaşım (7).



Şekil 5. infertil erkekte teratospermi araştırması (7)

(7). Şiddetli oligospermilerde endokrin bozukluk olabileceği unutulmamalıdır.

bir çalışmada doğal gebe kalma oranı %38.7, spontan abortus oranı ise %25 bulunmuştur (7).

Polyzoospermi

Sperm sayısı 250 milyon/ml veya üstündedir. Kesinlikle hastalık belirtisidir, infertilite nedenleri arasında sayılmaktadır. Polyzoospermik gönüllü çiftlerde yapılan

Teratospermi

Ejekulatta %70'den fazla oranda kromozomal hasar sonucu oluşan anormal sperm hücresi vardır. Olay, erken ve geç spermatogenezis basamağında veya

Tablo 7. Sperm hareketlerinin değerlendirilmesi

- 0 – Hareket hiç yok
- 1 – Sperm hareketli, ama ileri hareket yok
- 1* – Sperm hareketli ama ileri hareket çok az
- 2 – Sperm yılan kavi hareket gösterir ama ileri hareket çok az
- 2* – Sperm daha düzgün yılan kavi hareket gösterir, hafif ileri hareket var.
- 3 – Sperm daha düzgün yılan kavi hareket gösterir, orta derecede ileri hareket var.
- 3* – Sperm daha düzgün yılan kavi hareket gösterirken doğru bir hat üzerinde hızla ilerler.
- 4 – Sperm düzgün yılan kavi hareket gösterirken, bir hat üzerinde çok hızla ilerlemektedir.

sperm migrasyonu esnasında dejeneratif değişikliklerin oluşmasıyla gerçekleşmektedir (Şekil 4) (7). Teratospermi, kromozomal nedenlerin dışında epidimiste enfeksiyon veya inflamasyon sonucu spermiofajların fagositozu ve uzamış hormonal dengesizlik veya nörolojik anormallikler sonucuda oluşabilir.

Motilite

Fertilizasyon ile ilgili en önemli parametrelerden birisidir. Motilitenin değerlendirilmesinde 1-Motil hücre yüzdesi, 2-Motilitenin tipi, 3-Motilitenin süresi araştırılmasıdır. İncelemek ejakulat lamel altına taşmıyacak şekilde konulmalıdır. Motilite ile ilgili karar verirken en az 25 alan büyük büyütme ile taranarak karar verilmelidir.

"3 ve daha üstü" çok iyi motilite, "2" ise zayıf ile orta arasında sınırdır (5). Nekrospermide motilite "0" dır. Ejakulat çıktıktan 2-3 saat sonra spermlerin %60'nın iyi bir ileri hareket ve güçlü motiliteye sahip olması gerekir. Oda ısısında, 24 saat sonra çok az motil sperm kalır (1, 2). Yalnız spermlerin in-vitro ve in-vivo ortamlarda aktivite farklılıklarının olduğunu akıldan çıkarmamak gerekir.

On günde fazla cinsel perhizde bulunan şahıslarda sperm sayısı normal bulunurken, spermlerde testis iç., Je beklemekle hareket azlığı gözlenebilir. Cinsel aktivitenin düzenlenmesiyle hareketlerde düzelme gözlenir.

KAYNAKLAR

1. Coffey DS. Seminal contents. In: Walsh PC, et al, editors. Campbell's Urology, 6th ed .WB Saunders Company 1992; 251.
2. Glezerman M, Bartoov, B. Semen Analysis. In: Insler, V & Lunenfeld B editors. Infertility: Male and Female. Churchill Livingstone 1986:243.
3. Greenspan FS. Laboratory test of testicular function: Semen analysis. Basic and Clinical Endocrinology, 3rd ed. Middle East Edition. Appleton & Lange 1991; 415.
4. Sunderman WF, Boerner F. Seminal fluid. Normal values in clinical medicine. In: First ed. WB Saunders Company 1950; 385.
5. Ayder AR, Ünal S. Ejakulat muayenesi. Türkiye Klinikleri 1984; 4(1):85-90.
6. Yenson, Mutahhar. Ejekulat sıvısı. Klinik biyokimya labvratuar çalışmaları. Altıncı Basım. İstanbul: BY Dağıtım 1986; 534.
7. Lunenfeld B. Semen analysis. Infertility. Male and Female. First ed. Insler, V & . In: Lunenfeld B, editors. Churchill Livingstone 1986,
8. Sigman M, Howards SS. Semen analysis. Campbell's urology. In: Walsh PC, et al, editörs. 6th ed. WB Saunders Company 1992.