

# İNFERİL OLGULARDA SPERMATOZOİDLERİN MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE UYGULANAN BASİT BİR BOYAMA YÖNTEMİ

Dr. Güray OKYAR (x)  
Dr. İlker AKYOL (xx)  
Dr. Yılmaz BAYRAKTAR (xxx)  
Dr. Yaşar ERYILMAZ (x)  
Dr. Nimet YAVILIOĞLU (x)  
Dr. Erbil ERGENEKON (x)

## ÖZET :

*İnfertilite konusu eski yıllarda olduğu kadar günümüzde de önemliliğini devam ettirmektedir. Çeşitli araştırmacılar tarafından değişik tıbbi araştırmalar yapılarak konunun aydınlatılmasına çalışılmıştır.*

*1983 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında yaptığımız bu çalışmada basit bir boyama yönteminin spermatozoidlere uygulanabilirliğini araştırdık.*

*Hazırlanmasının olduğu kadar boyama tekniğininde çok kolay olduğu bu metodda tek bir solüsyonla spermatozoidler kısa sürede iki renkte boyanmaktadır. Sperm başlarının akrozomal kısmı soluk mavi post kronomal kromatinleri koyu mavi olarak, gövde ve kuyruk kısmı ise pembe renkte boyanmaktadır. Böylece spermatozoidlerin morfolojik anomalilerine kolayca tanyabilmek mümkündür.*

*Biz bu basit boyama metodunu bilim dalımıza tanı ve tedavi amacıyla müracaat eden 50 infertil olguda uyguladık. Bunların spermatozoidlerini boyayarak yaptığımız bu çalışmada ortalama % 18.40'lık morfolojik anomali saptadık. Bunun % 8.18'inde baş % 2,82'si gövde, % 7,40'ı kuyruk anomalisi oluşturmaktaydı.*

*Uygulamamız göstermiştir ki bu basit boyama mefodu infertilite çalışmalarında günlük uygulamaya müsait olup, en kısa sürede spermatozoid morfolojileri hakkında gerekli bilgiyi sağlayacak niteliktedir.*

(x) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Doçenti.

(xx) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Uzman, Doktor.

(xxx) Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Başkanı, Prof.Dr.

## Giriş ve Genel Bilgiler:

Spermatozoidlerin morfolojik yapılarını belirlemek için bir çok boyama yöntemi kullanılmaktadır. Bunlardan başlıcaları:

### 1- HEMATOXİLEN EOSİN

### 2- GİEMSA

1) HEMATOXİLEN EOSİN: bu metotta fiksasyon için xylol veya % 95'lik alkol kullananlar. Boyama için ise Harrisin hematoksin asit, alkol ve amonyaklı su ile eosin solüsyonu kullanılır. Çeşitli uygulama devreleri geçirdikten sonra nükleuslar mavi, protoplazma pembe renkte boyanır.

2) GİEMSA: Bu metotta fiksasyon zenker ile yapılmaktadır. Boyama ise GİEMSA Stok solüsyonu, GİEMSA boyası, ROSİN stok solüsyonu ve ROSİN çalışma solüsyonu kullanılmaktadır. Sonuç olarak nükleuslar mavi kollejan ve diğer doku elemanları pembe renkte boyanırlar.

## Gereç ve Yöntem

Biz kliniğimizde basit olan yeni bir boya yöntemi ile infertil olgularda spermatozoidlerin morfolojik özelliklerini değerlendirdik. Bu çalışmamızda Üroloji Anabilim Dalına 1983 yılında başvuran 50 infertil olguda uyguladık. Olguların seçimi herhangi bir metod dahilinde olmayıp, infertilite sebebi ile Bilim Dalımıza müracaat eden hastalar arasında rast gele seçilerek yapılmıştır. Ayrıca testi venöz drenajının fonksiyonel bozukluğu olan varikosel nedeni ile müracaat eden olgulardan spermatozoid yetersizliği tesbit edilen bazıları programa dahil edilmişlerdir.

Olgularımız 20-42 yaşları arasındadır. Yaş ortalaması 31'dir. Olguların yaş gruplarına dağılımı tablo: 1'de gösterilmiştir.

Yaş Grupları	Olgu Sayısı	Genel Toplam Ortalaması % de
20—45	9	18
25—29	20	40
30—34	14	28
35—39	5	10
40—44	2	4

Tablo: 1- İnfertil olguların yaş oğrubuna göre dağılımı.

Hastalarımızın her biri için spermogram raporu tanzim edilmiştir. Fizik muayene öz ve soy geçmişinde;

- Evlilik süresi
- Ailede infertilite hikayesi.
- Kabakulak orşiti.

—Testis torsiyonu

—Travmalar

—Geçirilmiş ürogenital ve diğer ameliyatlar.

—Kronik ve akut prostatitler.

—Endokrinel hastalıklar (özellikle hipotroidi, diabet)

—Devamlı kullanmakta olduğu ilaçlarve şua tedavisi, konuları araştırılmıştır.

Fizik muayenede dış genital organlar haricen bimanuel olarak incelenmiş, hipoplazik testis, orşit, hidrosel, varikosel, kordon kisti, spermatosel, skrotal fistül, ve geçirilmiş ameliyat nöbetleri ile ilgili patolojiler araştırılmıştır.

Daha sonra 4 günlük seksüel perhizi takiben masturbasyon yolu ile semen kontrolü yapılarak sperma kuru temiz bir cam kaba alınmak suretiyle normal oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra spermatozoidlerin direkt mikroskopik incelemeleri ve sayımları yapılmıştır.

Direkt mikroskobide spermiyumun lokosit ihtiva edip etmediği, spermatozoidlerin canlı, ölü ve anormal şekilleri % olarak tesbit edildi. Spermatozoidlerin hareket aktiviteleri çok zayıf, orta ve iyi olarak tesbit edilerek sayımları yapıldı. Spermatozoid sayımı işlemi nubauer sayım kamerasında yapıldı. Likeifiye olmuş olan spermiyumdan boyama yapmak üzere temiz lam üzerine çok ince olarak yapıldı. Yayma spermatozoid sayısının çok az olduğu hallerde bile mümkün olduğu kadar ince olmalıdır. Yayma yapıldıktan sonra preparat kurumak üzere normal oda sıcaklığında bekletilir. Yayma kuruyunca 0,5-1 ml. ethanol damlatılarak tesbit edilir ve kurutulur. Kurutulan preparatı aşağıda tarif edeceğimiz boyama metodu ile boyamaktayız.

---

Solüsyon I: 100 mg. Metilen mavisi-50 ml. Distile su.

---

Solüsyon II: 25 mg. Bazik füksin: 10 ml. Methanol sonra.  
40 ml. su: 40 mg. phenol.

---

Tablo: 2- İnfertil olgularda spermiyumlara uyguladığımız basit boyanın hazırlanışı ve ihtiva ettiği maddeler.

Tesbit edilmiş preparat solüsyon: I ve solüsyon: II'nin karışımına sokularak 10 saniye bekletilir sonra normal çeşme suyu ile yıkanılır. Kurutma kağıdı üzerine dik olarak konulur. Bu preparat immersiyon objektifi ile incelenir. İyi bir preparata her sahada 1-10 spermatazoid bulunmalıdır. Bakım işlemi bittikten sonra toluen ve xylene ile silinerek saklanabilir.

### Tartışma

Uyguladığımız boya metodu oldukça kolay hazırlanabilmektedir. İki solüsyon birleştirilerek tek bir solüsyon halinde ve bozulmadan 3 ay kullanılabilir.

Diğer boyaların hazırlanmaları ve muhafazalarında güçlük kadar preparatın hazırlanması sırasında yapılan çok sayıda işlem süreyi uzatmaktadır. Hematok-silen eosin boyama preparat 13 değişik işleme tabi tutulmakta ve ortalama süre 1-1,5, saat GİEMSA boyasında işlem sayısı 11 olup, süre 30-45 dakika iken bizim boyamamızda etil alkolle tesbitten sonra 10 saniye preparatı solüsyonda beklet-mek yeterli olmaktadır.

Kullandığımız boya metodunda başın açık ve koyu mavi iki farklı şekilde, gövde ve kuyruğun pembe renkte boyanması nedeniyle spermatozoidlerin morfo-lojik özellikleri daha net değerlendirilebilmektedir. Boya metodunda spermatoge-netik formlar ile lokositlerin ayırımı zor olabilir. Fakat bu konuda tecrübe kazanan-lar için ayırıcı tanının güç olmayacağı kanaatindeyiz. Zaman kaybı ve uygulanabi-lirlik yönünden hemotoksilen eosin ile GİEMSA boya metodlarının güçlüğü orta-dadır. Ayrıca gerek GİEMSA gerekse hemotoksilen eosin ile yapılan boyamalarda spermatozoidlerin morfolojik özellikleri uyguladığımız boya yöntemindeki gibi net görülememektedir.

Methodumuz günlük uygulamada kolayca kullanılabilir.

Spermogramların değerlendirilmesinde objektiflik sağlar.tartışmamızın ikinci bölümünde 50 infertil olgudaki spermatozoidlere ait morfolojik anomalleri değer-lerdirmekteyiz. Buna göre hazırladığımız yaymaları inmersiyon objektifi ile incele-diğimizde elde ettiğimiz sonuçlar aşağıdaki gibidir.

50 olguda spermlerin morfolojik anomani % 18,40 dır.

İncelediğimiz literatürlerde spermmorfolojik anomoni % 20 olup, alınan sonuçlar uygunluk göstermektedir. Bu değerler üzerine çıkıldığında irfertilite yönünden önemli bir etken olabileceği kaydedilmiştir. Bizim olgularımızda Baş anomalleri % 8,18

Kuyruk anomalleri % 7,40

Gövde anomalleri % 2,86 olarak bulunmuştur.

En sık görülen kuyruk anomali % 2,86 ile kıvrık kuyruklulardır. En azını ise % 0,16 ile çift kuyruklular oluşturmuştur. En fazla görülen baş anomali ise % 3,16 ile büyük başlı spermlerdir.

Yapılan bazı çalışmalarda spermatozoid morfolojik özelliklerinde 60'dan fazla değişik yapı gösterdiği belirlenmiştir. Ancak pratik amaçlar için spermato-zoid baş büyüklükleri 7 major tipe ayrılmaktadır. Bunlar: 1) Oval 2) Büyük 3) Küçük 4) Çift baş, 5) Yassı uzun, 6) Amor, 7) İmmatur baş tipleridir. Bunlar içinde en sık görülen % 60 oval başlılardır.

## S O N U Ç :

Atipik spermatozoidler insanlar dahil tüm memelilerde mevcuttur. Fertil erkek-lerde sperm morfolojik anomalileri % 20 nin altındadır. Bu oran % 20'nin üzerine

çıkıtığında sperm motilite % 70'in altına inerse infertilite söz konusudur. Ancak şunuda unutmamak lazımdır ki anomali yüzdesindeki artış infertilitedeki diğer etkenleri elemine ettikten sonra tek başına kıymet ifade edecektir.

Sayı ve motilitenin düşük olduğu oligo ve hipospermi durumlarında infertilitenin toplu olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Uyguladığımız bu basit sperm boyama metodunun tedavi edebilme güçlüğüne rağmen infertilite vak'alarını tedavilerine yönelmede faydalı olacağı kanaatindeyiz. Çünkü fiziksel olarak normal oldukları gibi, spermogram neticeleride müsbet olmasına rağmen çocuk sahibi olamıyan erkek hastaların sperm morfolojik özelliklerinin incelenmesi sonucunda anomalilerin kısa zamanda değerlendirilmesi mümkün olacaktır.

Basit bir boyama metodu ile kısa sürede sperm morfolojilerinin değerlendirilmesi infertilite vak'alarında önemli bir yer alacaktır.

A simple Method of Dyeing applied in the evaluation of morphological Properties of spermatozoids in infertile

### S U M M A R Y

Infertility has still been considered an important subject at the present time as it used to be in the old years. Different medical researches have been made by various persons in order that the subject to be enlightened.

In 1983, in our study made in university of Atatürk, Faculty of medicine in the Urology Department.

We researched that a simple dyeing method would be applied to spermatozoids.

In this method both the preparation and the dyeing technique are simple, spermatozoids could soon be dyed in two different colours by only one solution, the acrozomal part of the sperm heads can be dyed light blue, post acrozomal chromatin dark blue, post acrozomal chromatin dark blue, the body and the tail pink, In this way it'll be possible to recognize the morphological abnormality of spermatozoids easily.

We have applied this simple dyeing method to infertility patients while dyeing the spermatozoids of these cases we confirmed % 18,40 (percent) is morphological abnormality % 8,18 percent, was head, 2,83 percent of it was body and % 7,40 percent of it was tail abnormality.

Our study has proved that, in infertility studies this simple dyeing method is suitable for daily practices and is also capable of obtaining sufficient information about spermatozoid morphologies in as short time.

## KAYNAKLAR

- 1- Anafarta, K., Kalemli, M., Özdiler, E.: Genel ve Pratik Üroloji. 316-324, Ankara 1980.
- 2- Anthony, A. Caldomone, jhon, R. Volvo and Abraham, T.K. Cockett.: Evulation of the infertilitite or subfertile male. Ürologic Clinic of North America. 8 (1), 17-37, 1981.
- 3- Anderson, W.A.D.: Spermatogenesis. Pathology, fifth edition, 681, Saint Louis, 1966.
- 4- Berenyi, M., Gy. Corradı.: A Simple Staining method for the morpohlogic classification of spermatozoa İnternational Ürology and Nephrology, 14 (2), 185-188, 1982.
- 5- Gridley, M. F., Arker, O. N.: Laboratuar el kitabı, Hususi boyama teknikleri, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Patolojik Anatomi Enstitüsü Yayınları, 1, 32-39, 88, 1954.
- 6- Günalp, İ., Gerçel, R., Kafkas, M. Yaman L. S.: Üroloji ders kitabı Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 258, 305-314, 1971.
- 7- Ronald, L.: Pathopysiologic principles of male infertility, The Ürologic Clinics of North America, Male sexual Dysfunction, 8 (1) 3-16, 1981.
- 8- Torunoğlu, M.: İntegre Fizyoloji ve Fizyopatoloji ders kitabı Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları.
- 9- Smith, D. R.: İnfertility, General Ürology, 10 th, edition 551, 564, 1981.
- 10- Üstay, K.: İnfertilitite, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları: 131-168, 1973.