

SEMEN ANALİZİ VE YORUMLANMASI | INTERPRETATION OF SEMEN ANALYSIS

Bilgisayar Yardımlı Sperm Analizi
Computer Assisted Semen Analysis**Ege Can Şerefoğlu**

Kızıltepe Devlet Hastanesi, Üroloji Kliniği, Mardin

Özet | Abstract

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2010 yılında yayınladığı kılavuzda "opsiyonel prosedürler" başlığı altında tartışılan bilgisayar-yardımlı sperm analizi (computer-aided sperm analysis-CASA), sperm konsantrasyon ve motilite ölçümlerini en az klasik manüel metod kadar güvenilir bir şekilde, çok daha kısa sürede yapabilmektedir. Üstelik CASA ile elde edilen sonuçların daha kesin ve objektif olması, sperm hareket parametrelerine dair nicel veriler sağlama, CASA ile hesaplanan konsantrasyon ve motilite parametrelerinin fertilizasyon oranlarıyla belirgin ilişkili bulunması bu analiz yönteminin infertil erkeğin değerlendirilmesinde önemli bir potansiyel role sahip olduğunun kanıtıdır.

Anahtar kelimeler: Bilgisayar yardımlı sperm analizi, erkek infertilitesi, sperm

Computer-aided sperm analysis (CASA) has been discussed under "optional procedures" in the laboratory manual of World Health Organisation (WHO). However, sperm concentration and motility can be assessed with CASA, which is as reliable as the classical manual method, in a shorter time. Furthermore, assessment of motility, concentration and morphology with CASA, has higher precision and it provides quantitative data on the kinematic parameters of spermatozoa. Some studies have suggested that CASA estimates of concentration and movement characteristics are significantly related to fertilization rates and this proves that CASA has a potential role in the assessment of infertile men.

Key words: Computer aided sperm analysis, male infertility, sperm

Tam veya yarı-otomatik sperm analiz tekniklerinin tümüne birden bilgisayar-yardımlı sperm analizi (computer-aided sperm analysis-CASA) adı verilmektedir. Her ne kadar CASA teknikleri Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2010 yılında yayınladığı kılavuzda "opsiyonel prosedürler" başlığı altında tartışılıyor olsa da (1), bu tekniklerin sperm konsantrasyon ve motilite ölçümlerini en az klasik manuel metod kadar güvenilir bir şekilde, üstelik çok daha kısa sürede yapabildiği kanıtlanmıştır.(2)

Sperm konsantrasyonunu CASA ile ölçmek, spermatozoa ile katı parçacıkların ayırt edilmesindeki güçlükler nedeniyle uzun yıllar rutin uygulamaya girememiştir.(3) Ancak özellikle florasana DNA boyaları ve kuyruk-tespit algoritmalarındaki teknolojik ilerlemeler, sperm konsantrasyonu ve ileri hareketli spermatozoaların konsantrasyonunun hesaplanmasını mümkün hale getirmiştir.(4, 5) Böylece preparatların hazırlanmasında gerekli hassasiyetin gösterilmesi ve uygun cihazların kullanılmasıyla CASA'nın kullanımını genişletmiştir.(1)

CASA ile sperm motilitesini de objektif şekilde değerlendirmek mümkündür. Ayrıca bazı cihazlarda yarı-otomatik morfoloji modülleri de bulunmaktadır. Bu cihazlarla yapılan ölçümlerin manüel ölçümlerden iki üstünlüğü mevcuttur: 1.

CASA ile elde edilen sonuçlar daha kesindir ve objektiftir, 2. Spermatozoa hareket parametrelerine dair nicel veriler sağlamaktadır. Yapılan bazı çalışmalarda CASA ile hesaplanan konsantrasyon ve motilite parametrelerinin gebe kalma süresi, in vitro ve in vivo fertilizasyon oranlarıyla belirgin ilişkili olduğunu göstermiştir.(5, 6-13)

Sperm Motilitesi Ölçümünde CASA

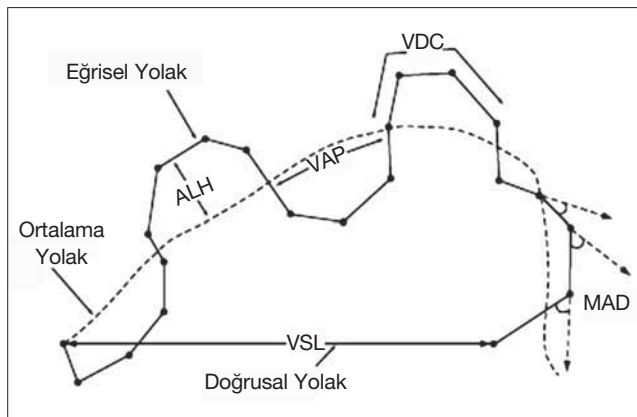
Motil hücreleri saptayabilen CASA cihazlarının en etkin kullanıldıkları alan spermatozoa hareket analizidir. Ancak hareketli sperm yüzdesi tahmininin güvenilir olmadığı, immotil spermatozoaların debrisler ile karışabileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle örnek hazırlanması, çerçeve oranı, sperm konsantrasyonu ve sayım odacığının derinliği gibi birçok faktör CASA cihazlarının performansını etkilemektedir.(14-17) Bununla birlikte, uygun prosedürler takip edilirse güvenilir sonuçların elde edilmesi mümkündür.(14)

Sperm motilitesi değerlendirilirken her bir CASA cihazının uygun koşullarda çalıştırıldığından emin olunmalıdır. Örneklerin hazırlanması sırasında DSÖ önerileri dikkate alınmalıdır. Sperm hareketi ısıya duyarlı olduğundan, CASA

cihazında motilite analizi sırasında spesmen ısı 37 °C'de tutulmalıdır. Motilite karakterleri ve sperm konsantrasyonu dilüe edilmemiş semen örneklerinde bakılabilir. Sperm motilitesi sperm konsantrasyonu 2-50 x 10⁶ /ml olan örneklerde bakılabilir.(12) Sperm konsantrasyonu daha yoğun olan örneklerde gerçekleşebilecek çarpışmalar hatalı sonuçlara yol açabilmektedir. Bu tür örneklerin incelenmesi sırasında, aynı erkekten temin edilecek seminal sıvı ile dilüe edilmesi tercih edilir.

CASA ile sperm motilite ölçümü yapılırken değerlendirilen bazı parametreler şunlardır (Şekil 1).

- 1. VCL:** Eğrisel Hız (µm/s). Sperm başının ilerlerken katettiği 2-boyutlu gerçek eğrisel yoldaki hızı. Hücre canlılığının bir göstergesidir.
- 2. VSL:** Doğrusal Hız (µm/s). Sperm başının tespit edilen ilk noktadan son noktaya gidene kadar olan hızı.
- 3. VAP:** Ortalama yol hızı (µm/s). Sperm başının ortalama yolaktaki hızı. Bu yolak eğrisel yolun CASA cihazlarındaki algoritmalara göre düzleştirilmesi ile hesaplanır. Bu algoritmalar cihazlar arasında farklılık gösterebileceği için VAP farklı CASA sistemleri arasında mukayese edilebilir bir ölçüt değildir.
- 4. ALH:** Sperm başının ortalama yolda ilerlerken laterale doğru saptığı uzaklık (µm). Sapma mesafesi maksimum veya ortalama değer halinde verilebilir ve bu değerler de farklı cihazlar arasında farklılık gösterebilir.
- 5. LIN:** Doğrusallık. Eğrisel yolağın doğrusallığı, VSL/VCL.
- 6. WOB:** kararsızlık. Gerçek yolda ilerlerken izlenen dalgalanmanın ölçüsü, VAP/VCL.
- 7. STR:** Doğrusallık. Ortalama yolun doğrusallığı, VSL/VAP.
- 8. BCF:** Çapraz geçiş frekans ritmi (Hz). Eğrisel yolağın ortalama yolağın geçme frekansı.
- 9. MAD:** Ortalama açılma hareket (derece). Sperm başının anlık dönüşleri sırasında yaptığı açılma değişiminin ortalaması.



Şekil 1. CASA sistemleriyle ölçülen motilite parametreleri için standart terminoloji.(1)

Sperm Konsantrasyonu ve Morfolojisini Değerlendirmede CASA Kullanımı

CASA'da florasana DNA boyalarının kullanımı motil sperm konsantrasyonu ve motilite yüzdesinin tespitini mümkün kılmıştır ancak tekniklere azami dikkat gösterilmesi gereklidir.(12) CASA cihazları florasana boyalı sperm başlarını tespit eder ve hesaplar. Mikroskopik değerlendirme olmaksızın spermatozoaların intakt olup olmadığını bilmek mümkün değildir.

CASA ile sperm morfolojisi daha objektif değerlendirilebilmekte, manüel sistemlere nazaran daha kesin ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilmektedir.(19, 20) Ancak CASA ile yapılan morfometrik değerlendirmelerin sonuçları odaklama, aydınlatma, örnek hazırlama ve boyamadaki metodolojik tutarsızlıklar nedeniyle hatalı sonuçlanabilir.(21, 22) Ayrıca, özellikle sperm konsantrasyonu düşük olduğunda sperm başlarının seminal debrislerden ayırt etmedeki teknik zorluklar nedeniyle de yanlış neticeler elde edilebilmektedir.(20, 22-24) Bu nedenle sperm konsantrasyonu düşük (<2 x 10⁶ /ml) olan örneklerin santrifüj ile konsantre edilmesi gerekir ancak santrifüj işlemi de sperm morfolojisini etkileyebileceğinden, bu işlemin yapıldığı sonuç raporuna kaydedilmelidir.

CASA ile yapılan morfolojik değerlendirmede hesaplanan normal sperm morfoloji sonuçlarının in vitro fertilizasyon ve gebelik başarısıyla yakın ilişkisi gösterilmiştir.(25) "Garett ve ark. subfertil çiftlerde yaptıkları geniş serili çalışmalarında, zona pellucidaya bağlanabilen baş morfolojili sperm yüzdesi, doğrusal hız (VSL) ve doğal gebelik oranı arasında ilişki olduğunu saptamışlardır.(12) CASA uygulamaları ile ölçülen sperm morfoloji değerleri ile fertilite sonuçlarını mukayese edecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

CASA Sistemleri

Birçok CASA sistemi ticari olarak temin edilebilmektedir. Bunlar arasında başlıcaları Sperm Vision, AndroExpert, SQA-V (Sperm Quality Analyzer or Spermalite), ISAS (Integrated Semen Analysis System), Sperm Class Analyzer, IVOS Sperm Analyzer ve CEROS Sperm Analyzer cihazlarıdır. Bu cihazlardan SQA-V (Sperm Quality Analyzer) yüksek performansıyla öne çıkmaktadır. Cleveland Clinic'ten yapılan çift-kör prospektif bir çalışmada SQA-V'nin konsantrasyon ve motiliteyi tayin etmede manüel metoda eşdeğer, morfolojinin değerlendirilmesinde ise manüel metottan daha kesin sonuçlar verdiği kaydedilmiştir.(26)

Sonuç

Manüel sperm analizine göre daha kısa sürede, daha kesin ve tekrarlanabilir sonuçlar veren CASA, infertil erkeğin değerlendirilmesinde önemli bir potansiyel role sahiptir. CASA cihazları ile yapılacak analizler sırasında teknik prose-

dürlere tam olarak uymak şarttır. CASA ile değerlendirilen sperm konsantrasyon, motilite ve morfoloji analiz sonuçları ile fertilitite oranlarını karşılaştıran daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. Fifth edition. World Health Organisation; 2010. <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/9789241547789/en/index.html>
2. Tomlinson MJ, Pooley K, Simpson T, Newton T, Hopkisson J, Jayaprakasan K et al. Validation of a novel computer-assisted sperm analysis (CASA) system using multitarget-tracking algorithms. *Fertil Steril* 2010;93:1911-20.
3. ESHRE Andrology Special Interest Group. European Society for Human Reproduction and Embryology. Guidelines on the application of CASA technology in the analysis of spermatozoa. *Hum Reprod* 1998;13:142-5.
4. Zinaman MJ, Uhler ML, Vertuno E, Fisher SG, Clegg ED. Evaluation of computer-assisted semen analysis (CASA) with IDENT stain to determine sperm concentration. *J Androl* 1996;17:288-92.
5. Garrett C, Liu DY, Clarke GN, Rushford DD, Baker HW. Automated semen analysis: "zona pellucida preferred" sperm morphometry and straight-line velocity are related to pregnancy rate in subfertile couples. *Hum Reprod* 2003;18:1643-9.
6. Liu DY, Clarke GN, Baker HW. Relationship between sperm motility assessed with the Hamilton Thorn motility analyzer and fertilization rates in vitro. *J Androl* 1991;12:231-9.
7. Barratt CL, Tomlinson MJ, Cooke ID. Prognostic significance of computerized motility analysis for in-vivo fertility. *Fertil Steril* 1993;60:520-5.
8. Irvine DS, Macleod IC, Templeton AA, Masterton A, Taylor A. A prospective clinical study of the relationship between the computer-assisted assessment of human semen quality and the achievement of pregnancy in vivo. *Hum Reprod* 1994;9:2324-34.
9. Krause W. Computer-assisted sperm analysis system: comparison with routine evaluation and prognostic value in male fertility and assisted reproduction. *Hum Reprod* 1995;10:60-6.
10. Donnelly ET, Lewis SE, McNally JA, Thompson W. In-vitro fertilization and pregnancy rates: the influence of sperm motility and morphology on IVF outcome. *Fertil Steril* 1998;70:305-14.
11. Larsen L, Scheike T, Jensen TK, Bonde JP, Ernst E, Hjollund NH et al. Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Hum Reprod* 2000;15:1562-7.
12. Garrett C, Liu DY, Clarke GN, Rushford DD, Baker HW. Automated semen analysis: "zona pellucida preferred" sperm morphometry and straight-line velocity are related to pregnancy rate in subfertile couples. *Hum Reprod* 2003;18:1643-9.
13. Shibahara H, Obara H, Ayustawati, Hirano Y, Suzuki T, Ohno A et al. Prediction of pregnancy by intrauterine insemination using CASA estimates and strict criteria in patients with male factor infertility. *Int J Androl* 2004;27:63-8.
14. Davis RO, Katz DF. Standardization and comparability of CASA instruments. *J of Andrology*, 1992;13:81-6.
15. Mortimer D. Practical laboratory andrology. Oxford, Oxford University Press 1994.
16. Mortimer D. Laboratory standards in routine clinical andrology. *Reproductive Medicine Review* 1994;3:97-111.
17. Kraemer M, Fillion C, Martin-Pont B, Auger J. Factors influencing human sperm kinematic measurements by the Celltrak computer-assisted sperm analysis system. *Hum Reprod* 1998;13:611-9.
18. Mortimer D, Aitken RJ, Mortimer ST, Pacey AA. Workshop report: clinical CASA - the quest for consensus. *Reprod Fertil Dev* 1995;7:951-9.
19. Menkveld R, Kruger TF. Basic semen analysis. In: Acosta AA et al., eds. Human spermatozoa in assisted reproduction. Baltimore, Williams & Wilkins 1990;68-84.
20. Garrett C, Baker HWG. A new fully automated system for the morphometric analysis of human sperm heads. *Fertility and Sterility* 1995;63:1306-17.
21. Lacquet FA, Kruger TF, Du Toit TC, Lombard CJ, Sanchez Sarmiento CA, De Villiers A et al. Slide preparation and staining procedures for reliable results using computerized morphology. *Arch Androl* 1996;36:133-8.
22. Menkveld R, Lacquet FA, Kruger TF, Lombard CJ, Sanchez Sarmiento CA, de Villiers A. Effects of different staining and washing procedures on the results of human sperm morphology by manual and computerized methods. *Andrologia* 1997;29:1-7.
23. Coetzee K, Kruger TF, Lombard CJ. Repeatability and variance analysis on multiple computer-assisted (IVOS) sperm morphology readings. *Andrologia* 1999;31:163-8.
24. Coetzee K, Kruger TF, Lombard CJ, Shaughnessy D, Oehninger S, Ozgür K et al. Assessment of interlaboratory and intralaboratory sperm morphology readings with the use of a Hamilton Thorne Research integrated visual optical system semen analyzer. *Fertil Steril* 1999;71:80-4.
25. Coetzee K, de Villiers A, Kruger TF, Lombard CJ. Clinical value of using an automated sperm morphology analyzer (IVOS). *Fertil Steril* 1999;71:222-5.
26. Agarwal A, Sharma RK. Automation is the key to standardized semen analysis using the automated SQA-V sperm quality analyzer. *Fertil Steril* 2007;87:156-62.