

Cinsel perhiz süresi ve semen parametreleri arasındaki ilişki

Relationship between the duration of sexual abstinence and semen parameters

Ahmet Gökçe , Deniz Gül, Hacı Can Direk, Hacı İbrahim Çimen, Fikret Halis

ÖZ

AMAÇ: Erkeklerde üreme kapasitesini öngörebilmek amacıyla ejakülatın makroskobik ve mikroskobik özelliklerinin değerlendirildiği semen analizi bazı intrinsek ve ekstrinsek faktörlerden etkilenmektedir. Bu çalışmanın amacı, cinsel perhiz süresinin konvansiyonel semen parametreleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEMLER: Çalışmaya hastanemiz androloji laboratuvarında Ocak 2015 – Haziran 2017 tarihleri arasında yapılmış semen analizi sonuçları normal olan 170 hasta dahil edildi. Hastalar cinsel perhiz sürelerine göre 0–1 gün (30 hasta), 2–5 gün (90 hasta) ve 6–7 gün (50 hasta) olarak üç gruba ayrıldı ve gruplar arasında hacim, pH, konsantrasyon ve motilite oranları karşılaştırıldı.

BULGULAR: Hastaların yaş ortalaması 31,06±6,08 yıl idi ve gruplar arasında istatistiksel fark yoktu. Hastaların semen analizlerinde cinsel perhiz süresi uzadıkça hacim, konsantrasyon ve hareketsiz motilite oranlarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı, total motilite ve ilerli motilite oranlarının ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı saptandı. pH ve yerinde motilite oranları açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

SONUÇ: Bu çalışmanın sonuçları normal sağlıklı bireylerdeki semen analizlerinde cinsel perhiz süresi arttıkça hacim ve sperm konsantrasyonunun arttığını, motilitenin ise azaldığını göstermektedir. Semen analizlerini değerlendirirken bu verilerin dikkate alınmasında yarar olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Cinsel perhiz süresi, konsantrasyon, motilite, normospermi, semen

ABSTRACT

OBJECTIVE: Semen analysis, the assessment of the macroscopic and microscopic properties of ejaculate in order to predict the reproductive capacity of a man, is influenced by some intrinsic and extrinsic factors. The aim of this study was to evaluate the effects of the duration of sexual abstinence on conventional semen parameters.

MATERIAL and METHODS: One hundred-seventy patients with normal semen analysis in our andrology laboratory between January 2015 and June 2017 were included in the study. Patients were divided into 3 groups according to their sexual abstinence periods: 0–1 days (30 patients), 2–5 days (90 patients) and 6–7 days (50 patients) and the volume, pH, concentration, and motility rates were compared between groups.

RESULTS: The mean age of the patients was 31.06±6.08 years and there was no statistically significant difference among the groups. In the semen analysis of the patients; the volume, concentration and immotility sperm rates were increased, total motility and progressive motility rates were decreased significantly with the duration of sexual abstinence. There was no statistically significant difference between groups in terms of pH and non-progressive motility rates.

CONCLUSION: The results of this study show that as the duration of sexual abstinence increases, the volume and sperm concentration increases and the motility decreases in semen analyses of normal healthy individuals. We consider that these data will be useful to evaluate semen analysis.

Keywords: Sexual abstinence duration, concentration, motility, normospermia, semen

GİRİŞ

Semen analizi erkeğin üreme kapasitesini öngörebilmek amacıyla ejakülatın makroskobik ve mikroskobik özelliklerinin değerlendirilmesidir.^[1] Bu analizin sonuçlarına bakıldığında sağlıklı bireylerin kendi içinde veya bireyler

arasında çeşitli semen özelliklerinde kayda değer oranda değişkenliklerin olduğu gösterilmiştir.^[2] Bu farklılıklar, büyük ölçüde değiştirilebilir bazı intrinsek ve/veya ekstrinsek faktörlerle ilişkilendirilmiştir. Cinsel perhiz süresi, boşalma sıklığı ve sperm toplama yöntemi bu faktörlere örnek olarak verilebilir. Ejakülat kalitesini etkileme potansiyeli taşıyan diğer faktörler; genel sağlık ve yaşam tarzı, enfeksiyon, erkek salgı bezlerinin işlev bozukluğu, ürogenital cerrahi gibi terapötik ve çevresel faktörlerdir.^[3] Üretilen spermin niceliği veya niteliği veya her ikisi de bu faktörlerden etkilenebilir.^[4] Semen parametrelerini etkileyen çeşitli faktörlerden biri olan cinsel perhiz süresi, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından önerilen semen değerlendirme

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Sakarya

Yazışma Adresi/ Correspondence:

Doç. Dr. Ahmet Gökçe
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, Sakarya, Türkiye
Tel. +90 264 888 40 51
E-mail: gokce@sakarya.edu.tr

Geliş/ Received: 30.01.2018

Kabul/ Accepted: 15.02.2018

kılavuzlarında yer alan bir kriterdir. DSÖ, standart semen değerlendirmesi için semen toplanmasından önce 2–7 günlük bir cinsel perhiz önermektedir.^[5] Bununla birlikte, İskandinav Androloji Birliği (NAFA) ve Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE), 3–4 günlük daha dar bir cinsel perhiz süresi aralığını önerir.^[6]

Cinsel perhiz süresi, doğal veya yardımcı üreme teknikleri ile başarılı konsepsiyon için gerekli miktar ve kalitede spermatozoa sağlamak adına önemlidir^[7]; infertilite tedavisinde gebelik oranları ile de ilişkilendirilmiştir.^[8-11] Uzun cinsel perhiz süresinin, semen analizi sonucunda hacim ve sperm konsantrasyonunu arttıracığı genel kabul görmekte birlikte, sperm hareketliliği ve canlılığı üzerinde olumsuz etkilerinin olabileceğini bildiren çalışmalar da vardır.^[11-13] Bir diğer görüşe göre ise, uzun cinsel perhiz aralıkları yetersiz sperm üreten erkeklerin yararıdır; çünkü sperm, kanallarda yedi gün veya daha fazla cinsel perhiz döneminde birikir. Diğer taraftan, sperm üretimi iyi olan erkeklerde sperm kanalları üç gün veya daha kısa bir sürede muhtemelen dolu olduğu için uzun cinsel perhiz aralıkları fayda yerine zarar getirebilir.^[4] Değişik görüşlerin ışığında, cinsel perhiz süresinin hem konvansiyonel hem de fonksiyonel parametreler üzerindeki kesin etkisi konusunda fikir birliği yoktur.^[9,14-17] Bu çalışmanın amacı, cinsel perhiz süresinin konvansiyonel semen parametreleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada, hastanemiz androloji laboratuvarında Ocak 2015-Haziran 2017 tarihleri arasında yapılmış semen analizleri retrospektif olarak tarandı. Çalışmaya dahil edilmede aranan kriterler, normal sperm analizi sonucuna sahip ve sağlıklı birey olmaktı. Normospermik olmayan ve ek hastalığı olan olgular çalışma dışında bırakıldı. Hastaların yaşları, semen analizi verilerindeki cinsel perhiz süresi, hacim,

pH, konsantrasyon, total (ileri+yerinde), ileri ve yerinde motilite oranları, hareketsiz sperm oranları kaydedildi. Semen analizleri DSÖ 2010 kriterlerine göre değerlendirildi. Çalışmaya toplamda 170 hasta dahil edildi. Hastalar, cinsel perhiz sürelerine göre 0–1 gün (grup 1), 2–5 gün (grup 2) ve 6–7 gün (grup 3) olmak üzere üç gruba ayrıldı; gruplarda sırasıyla 30, 90 ve 50 hasta mevcuttu.

Verilerin analizi için SPSS v.22 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli değişkenler için ortalama±standart sapma olarak, kategorik değişkenler ise frekans ve (%) şeklinde gösterildi. Değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun olup olmadığı, Kolmogorov Smirnov ve Shapiro Wilk testleriyle değerlendirildi. İki den fazla alt gruba sahip olan ve normal dağılıma uyduğu tespit edilen sayısal değişkenlerin karşılaştırmasında, parametrik testlerden tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve değişkenlerdeki artışın değerlendirilmesi için regresyon analizi yapıldı. P değeri 0,05'ten küçük olan veriler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hastaların yaş ortalamaları, 1., 2. ve 3. grupta sırasıyla 32,70±5,31, 30,14±5,99 ve 31,72±6,48 yıldır ve gruplar arasında yaş açısından anlamlı fark yoktu (p=0,09). Hastaların semen analizlerinde, hacimlerine bakıldığında, hacim ortalamaları 1., 2. ve 3. grupta sırasıyla 2,43±1,21 ml, 2,95±0,89 ml ve 3,29±1,24 ml idi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (p=0,003). Sperm konsantrasyonları hesaplandığında, yine aynı sıra ile 65,13±27,95 m/ml, 75,08±25,52 m/ml ve 82,8±29,43 m/ml değerleri bulundu ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı (p=0,019). Grup 1, 2 ve 3 için total motilite, sırasıyla %62,87±8,07, %58,55±8,70 ve %56,36±8,28 (p=0,005); ileri motilite, sırasıyla %55,26±8,44, %50,70±10,39 ve %49,00±8,71 (p=0,019); ve hareketsiz sperm oranları,

Tablo 1. Hastaların semen analizi verilerinin gruplara göre karşılaştırılması

	1.grup (0-1 gün) (n=30)	2.grup (2-5 gün) (n=90)	3.grup (6-7 gün) (n=50)	Toplam (n=170)	P
Yaş (yıl)	32.70 (±5.31)	30.14 (±5.99)	31.72 (±6.48)	31.06 (±6.08)	0.090
pH	7.51 (±0.07)	7.53 (±0.09)	7.53 (±0.07)	7.52 (±0.08)	0.620
Hacim (ml)	2.43 (±1.21)	2.95 (±0.89)	3.29 (±1.24)	2.96 (±1.09)	0.003
Konsantrasyon (mil/ml)	65.13 (±27.95)	75.08 (±25.52)	82.88 (±29.43)	75.62 (±27.63)	0.019
Motilite (ileri + yerinde) (%)	62.87 (±8.07)	58.55 (±8.70)	56.36 (±8.28)	58.67 (±8.69)	0.005
İleri motilite (%)	55.26 (±8.44)	50.70 (±10.39)	49.00 (±8.71)	51.00 (±9.78)	0.019
Yerinde motilite (%)	7.60 (±3.44)	7.85 (±3.93)	7.35 (±3.21)	7.66 (±3.63)	0.730
Hareketsiz sperm (%)	37.12 (±8.07)	41.44 (±8.70)	43.63 (±8.28)	41.32 (±8.69)	0.005

sırasıyla %37,12±8,07, %41,44±8,70 ve %43,63±8,28 (p=0,005) idi ve üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı. pH ve yerinde motilite oranları açısından ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptandı (Tablo 1). Yapılan regresyon analizinde ise gruplar arasında hacim, konsantrasyon ve hareketsiz sperm oranı istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulundu (sırasıyla p=0,000, p=0,001 ve p=0,000).

TARTIŞMA

Cinsel perhiz süresinin semen kalitesi üzerine etkileri ile ilgili olarak, literatürde yapılmış çalışmalara bakıldığında değişik sonuçlarla karşılaşılmaktadır. Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz bulgularda, farklı cinsel perhiz sürelerinin, semen analizi parametrelerinden hacim, konsantrasyon, total ve ileri motilite oranlarını etkilediğini gördük. Çalışmamızda semen hacmi, cinsel perhiz süresi uzadıkça anlamlı ölçüde artmıştır. Semen hacmi ile ilgili bulgular, benzer retrospektif ve prospektif çalışmalarda bildirilen verilerle uyumludur.^[9-12,14-25] Semen hacmindeki kısa cinsel perhiz süresi ile ilişkili azalmalar, seminal veziküller ve prostat gibi ejakülat hacmine etki eden seksüel glandların yeterli katkı sağlayamamasına bağlı olabilir. Bu organların epitel dokuları, mRNA üretimini ve kaba endoplazmik retikulum sentezini düzenleyen ve böylece seminal plazma proteinlerinin üretimini arttırdığı düşünülen androjen tarafından uyarılmaktadır.^[26] Seminal veziküllerin ve prostat bezinin salgı kapasitesi, sıçanlarda^[27] ve erkeklerde^[28] yüksek endojen serum testosteron seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, cinsel perhiz süresinin artışı ile serum testosteron seviyelerinin arttığı bildirilmiştir.^[29] Bu nedenle, uzun cinsel perhiz süresi ile ilişkili olan testosteronun seksüel glandlar üzerindeki uyarıcı etkisi, semen hacminin artmasına neden olabilir.

Sperm konsantrasyonu, semen kalitesinin kritik bir göstergesi ve fertilitate potansiyeli için prognostik bir faktördür.^[30] Bununla birlikte, spermatogenezin doğru bir ölçüsü olarak önerilmemektedir. Çünkü, konsantre epididimal spermatozoa, boşalma sırasında seksüel glandların salgı hacminden etkilenmektedir.^[5] Sperm konsantrasyonunun semen volümüyle çarpımı ile elde edilen toplam spermatozoa sayısının, fertilitate potansiyelinin değerlendirilmesi için daha iyi bir parametre olduğu öne sürülmüştür.^[31] DSÖ tarafından tavsiye edilen sperm konsantrasyonunun ve toplam sayısının alt sınır değerleri sırasıyla 15x10⁶ sperm/mL ve 39x10⁶ sperm/ejakülatır.^[5] Çalışmamızda, sperm konsantrasyonunun cinsel perhiz süresindeki artışla doğru orantılı olarak arttığını gördük. Yapılmış çalışmalara baktığımızda benzer şekilde, cinsel perhiz süresi ile sperm konsantrasyonunun doğrusal bir ilişki içinde olduğunu görmekteyiz.^[10-21] Bununla birlikte, yapılmış iki çalışmada, uzun cinsel

perhiz sonrası sperm konsantrasyonunda hafif bir artış tespit edilmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.^[23,24] Sperm konsantrasyonunun artan cinsel perhiz süreleri ile tutarlı pozitif korelasyonu, günde yaklaşık 130–270x10⁶ olduğu tespit edilen sperm üretimine bağlanabilir.^[31] Testiküler fonksiyonların ve spermatogenezin düzenlenmesi, endokrin ve parakrin sinyallerinin karmaşık bir kombinasyonunu gerektirir. Göreceli olarak daha yüksek seviyedeki testosteron, spermatogenezin sürdürülmesi için şarttır. Serum testosteron düzeylerinin, ikinci günden beşinci güne kadar dalgalanma gösterdiği, yedinci günden sonra pik yaptığı ve cinsel perhiz süresi daha da uzasa bile nispeten sabit kaldığı gösterilmiştir.^[29]

Sperm hücrelerinin işlevsel yeterliliği hakkında hayati bilgiler sağlayan motilite değerlendirilmesinin, erkek fertilitate potansiyeli için son derecede önemli olduğu bilinmektedir. Ejakülatta hareketli spermatozoa yüzdesi, epididimal sperm olgunlaşmasının bir göstergesidir.^[32] Aynı zamanda, spermelerin kadın genital sisteminden geçip yumurtaya erişmesi için ilerleyici motilite gereklidir. Bununla birlikte, motilite yalnızca sperm transiti için değil, aynı zamanda dölleme sırasında da önemli bir rol oynamaktadır. Motilite ile sağlanan mekanik itici güç, spermelerin kumulus-oosit kompleksinin dış katmanları boyunca ilerlemesini sağlar.^[33] Toplam hareketlilik ve ileri hareketlilik yüzdeleri için DSÖ alt sınır değerleri sırasıyla %40 ve %32'dir.^[5] Bulgularımız, artmış cinsel perhiz sürelerinin sperm motilitesindeki azalma ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Hem toplam hem de ileri motilitede, cinsel perhiz süresinin artışı ile istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalma saptanmıştır. Çeşitli çalışmalar, cinsel perhiz süresi ile sperm motilitesi arasındaki ters korelasyonun gösterildiği benzer sonuçlar bildirmiştir.^[7,10,14,15,17,20,34-36] Bununla birlikte, bazı çalışmalarda cinsel perhiz süresi ile motilite arasında herhangi bir korelasyon gözlenmemiştir.^[11,12,17,22] Bu konuda görüş birliği bulunmamaktadır. Literatüre bakıldığında, yapılmış beş çalışmada da, bizim çalışmamızda olduğu gibi cinsel perhiz süresi ile ileri motilite arasında ters korelasyon olduğu görülmektedir.^[18,25,37-39] Uzamış cinsel perhiz süreleri ile sperm hacmindeki ve sperm konsantrasyonundaki artışa, özellikle ileri motilitede, neredeyse sürekli bir azalmanın eşlik ettiği görülmektedir. Cinsel perhiz süresinin semen kalitesindeki değişimleri nasıl etkileyebileceğine dair kesin mekanizma bilinmemekle birlikte, bazı teoriler öne sürülmüştür. Örneğin; epididimdeki depolama süresinin azaltılması, spermelerin aynı mikro çevre içindeki dejenere hücrelerden salınan motilite baskılayıcı faktörlere ve enzimlere maruz kalma süresini azaltabilir.^[37] Dahası, kauda epididimisin sperm rezerv kapasitesi sınırlıdır.^[40]; bu nedenle, uzun süreli cinsel perhiz sırasında sperm konsantrasyonundaki önemli miktarda artış, enerji

rezervlerinin tükenmesine ve yaşlanmış spermilerin epididimde birikmesine neden olabilir.^[41] Bu yaşlı spermatozoa birikimi, semen kalitesini göreceli olarak düşürür.^[9,42] Cinsel perhiz süresinin uzatılması, sperm hücrelerinin genital ısıya maruziyetindeki duyarlılığı artırabilir ve bu da, epididimal spermatozoa membran fosfolipid yapısında^[43] ve sperm flagellumunun motor fonksiyonel özelliklerinde^[44] olumsuz değişikliklere neden olabilir. Bu nedenle, cinsel perhiz süresinin azaltılması, ısı etkisine maruziyeti en aza indirerek motilitede artışa neden olabilir.

SONUÇ

Bu çalışmanın sonuçları, normal sağlıklı bireylerdeki semen analizlerinde cinsel perhiz süresi arttıkça hacim ve sperm konsantrasyonunun arttığını, motilitenin ise azaldığını göstermektedir. Semen analizlerini değerlendirirken bu verilerin dikkate alınmasında yarar olacağını düşünmekteyiz. Konuyla ilgili yapılacak daha büyük serili çalışmalara ihtiyaç vardır.

Hakem Değerlendirmesi

Dış bağımsız

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek

Herhangi bir mali destek alınmamıştır.

Peer-review

Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure

No financial disclosure was received.

KAYNAKLAR

1. Comar VA, Petersen CG, Mauri AL, Mattila M, Vagnini LD, Renzi A, et al. Influence of the abstinence period on human sperm quality: analysis of 2,458 semen samples. *JBRA Assist Reprod* 2017;21:306–12. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20170052>
2. Alvarez C, Castilla JA, Martinez L, Ramirez JB, Vergara F, Gaforio JJ. Biological variation of seminal parameters in healthy subjects. *Hum Reprod* 2003;18:2082–8.
3. du Plessis SS, Agarwal A, Sabanegh Jr ES, editors. *Male Infertility: A Complete Guide to Lifestyle and Environmental Factors*. New York: Springer-Verlag; 2014. pp 1–268. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1040-3>
4. Amann RP. Considerations in evaluating human spermatogenesis on the basis of total sperm per ejaculate. *J Androl* 2009;30:626–41. <https://doi.org/10.2164/jandrol.108.006817>
5. World Health Organization. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*, 5th ed. Geneva: WHO Press; 2010. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44261/1/9789241547789_eng.pdf
6. Kvist U, Björndahl L, editors. *Manual on Basic Semen Analysis*. ESHRE Monographs, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press; 2002.
7. Lehavi O, Botchan A, Paz G, Yogev L, Kleiman SE, Yavetz H, Hauser R. Twenty-four hours abstinence and the quality of sperm parameters. *Andrologia* 2014;46:692–7. <https://doi.org/10.1111/and.12137>
8. Küçük T, Sozen E, Buluc B. Intrauterine insemination with double ejaculate compared with single ejaculate in male factor infertility: a pilot study. *J Androl* 2008;29:404–7. <https://doi.org/10.2164/jandrol.107.004754>
9. Sanchez-Martin B, Sanchez-Martin F, Gonzalez-Martinez M, Gosalvez J. Increased pregnancy after reduced male abstinence. *Syst Biol Reprod Med* 2013;59:256–60. <https://doi.org/10.3109/19396368.2013.790919>
10. Marshburn PB, Alanis M, Matthews ML, Usadi R, Papadakis MH, Kullstam S, Hurst BS. A short period of ejaculatory abstinence before intrauterine insemination is associated with higher pregnancy rates. *Fertil Steril* 2010;93:286–8. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.07.972>
11. De Jonge C, LaFromboise M, Bosmans E, Ombelet W, Cox A, Nijs M. Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril* 2004;82:57–65. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.03.014>
12. Pellestor F, Girardet A, Andreo B. Effect of long abstinence periods on human sperm quality. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1993;39:278–82.
13. Magnus O, Tollefsrud A, Abyholm T, Purvis K. Effects of varying the abstinence period in the same individuals on sperm quality. *Arch Androl* 1991;26:199–203.
14. Levitas E, Lunenfeld E, Weiss N, Friger M, Har-Vardi I, Koifman A, Potashnik G. Relationship between the duration of sexual abstinence and semen quality: analysis of 9,489 semen samples. *Fertil Steril* 2005;83:1680–6. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.12.045>
15. Agarwal A, Gupta S, Du Plessis S, Sharma R, Esteves SC, Cirenza C, et al. Abstinence time and its impact on basic and advanced semen parameters. *Urology* 2016;94:102–10. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2016.03.059>
16. Mayorga-Torres BJ, Camargo M, Agarwal A, du Plessis SS, Cavidad AP, Cardona Maya WD. Influence of ejaculation frequency on seminal parameters. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:47. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0045-9>
17. Mayorga-Torres JM, Agarwal A, Roychoudhury S, Cadavid A, Cardona-Maya WD. Can a Short Term of Repeated Ejaculations Affect Seminal Parameters? *J Reprod Infertil* 2016;17:177–83.
18. Bahadur G, Almossawi O, Zeirideen Zaid R, Ilahibuccus A, Al-Habib A, Muneer A, Okolo S. Semen characteristics in consecutive ejaculates with short abstinence in subfertile males. *Reprod Biomed Online* 2016;32:323–8. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.11.021>
19. Schwartz D, Laplanche A, Jouannet P, David G. Within-subject variability of human semen in regard to sperm count, volume, total number of spermatozoa and length of abstinence. *J Reprod Fertil* 1979;57:391–5.
20. Le Lannou D, Colleu D, Boujard D, Le Couteux A, Lescoat D, Segalen J. Effect of duration of abstinence on maturity of human spermatozoa nucleus. *Arch Androl* 1986;17:35–8.
21. Carlsen E, Petersen JH, Andersson AM, Skakkebaek NE. Effects of ejaculatory frequency and season on variations in semen quality. *Fertil Steril* 2004;82:358–66. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.01.039>
22. Mortimer D, Templeton AA, Lenton EA, Coleman RA. Influence of abstinence and ejaculation-to-analysis delay on semen analysis parameters of suspected infertile men. *Arch Androl* 1982;8:251–6.
23. Oldereid NB, Gordeladze JO, Kirkhus B, Purvis K. Human sperm characteristics during frequent ejaculation. *J Reprod Fertil* 1984;71:135–40.
24. Padova G, Tita P, Briguglia G, Giuffrida D. Influence of abstinence length on ejaculate characteristics. *Acta Eur Fertil* 1988;19:29–31.

25. Sunanda P, Panda B, Dash C, Padhy RN, Routray P. Effect of age and abstinence on semen quality: A retrospective study in a teaching hospital. *Asian Pac J Reprod* 2014;3:134–41. [https://doi.org/10.1016/S2305-0500\(14\)60017-8](https://doi.org/10.1016/S2305-0500(14)60017-8)
26. Fawell SE, Higgins SJ. Androgen regulation of specific mRNAs, endoplasmic reticulum and Golgi-system. *Mol Cell Endocrinol* 1984;37:15–27.
27. Zanato VF, Martins MP, Anselmo-Franci JA, Petenusci SO, Lamano-Carvalho TL. Sexual development of male Wistar rats. *Braz J Med Biol Res* 1994;27:1273–80.
28. Gonzales GF. Basal serum testosterone as an indicator of response to clomiphene treatment in human epididymis, seminal vesicles and prostate. *Andrologia* 2002;34:308–16.
29. Jiang M, Xin J, Zou Q, Shen JW. A research on the relationship between ejaculation and serum testosterone level in men. *J Zhejiang Univ Sci* 2003;4:236–40.
30. Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 2001;345:1388–93. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa003005>
31. Amann RP. Evaluating spermatogenesis using semen: the biology of emission tells why reporting total sperm per sample is important, and why reporting only number of sperm per milliliter is irrational. *J Androl* 2009;30:623–5. <https://doi.org/10.2164/jandrol.108.006809>
32. Fàbrega A, Puigmulé M, Bonet S, Pinart E. Epididymal maturation and ejaculation are key events for further in vitro capacitation of boar spermatozoa. *Theriogenology* 2012;78:867–77. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.03.039>
33. Suarez SS, Pacey AA. Sperm transport in the female reproductive tract. *Hum Reprod Update* 2006;12:23–37. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi047>
34. Rao M, Meng TQ, Hu SH, Guan HT, Wei QY, Xia W, et al. Evaluation of semen quality in 1808 university students, from Wuhan, Central China. *Asian J Androl* 2015;17:111–6. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.135984>
35. Hornstein MD, Cohen JN, Thomas PP, Gleason RE, Friedman AJ, Mutter GL. The effect of consecutive day inseminations on semen characteristics in an intrauterine insemination program. *Fertil Steril* 1992;58:433–5.
36. Makkar G, Ng EH, Yeung WS, Ho PC. A comparative study of raw and prepared semen samples from two consecutive days. *J Reprod Med* 2001;46:565–72.
37. Valsa J, Skandhan KP, Gusani PH, Sahab Khan P, Amith S. Quality of 4-hourly ejaculates –levels of calcium and magnesium. *Andrologia* 2013;45:10–7. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2012.01301.x>
38. Elzanaty S, Malm J, Giwercman A. Duration of sexual abstinence: epididymal and accessory sex gland secretions and their relationship to sperm motility. *Hum Reprod* 2005;20:221–5. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh586>
39. Sobreiro BP, Lucon AM, Pasqualotto FF, Hallak J, Athayde KS, Arap S. Semen analysis in fertile patients undergoing vasectomy: reference values and variations according to age, length of sexual abstinence, seasonality, smoking habits and caffeine intake. *Sao Paulo Med J* 2005;123:161–6. <https://doi.org/10.1590/S1516-31802005000400002>
40. Bedford JM. The status and the state of the human epididymis. *Hum Reprod* 1994;9:2187–99.
41. Ayad BM, Horst GV, Plessis SSD. Revisiting the Relationship Between the Ejaculatory Abstinence Period and Semen Characteristics. *Int J Fertil Steril* 2018;11:238–46. <https://doi.org/10.22074/ijfs.2018.5192>
42. Mortimer D. *Practical Laboratory Andrology*. New York: Oxford University Press, Inc; 1994;13–42.
43. Wechalekar H, Setchell BP, Peirce EJ, Ricci M, Leigh C, Breed WG. Whole-body heat exposure induces membrane changes in spermatozoa from the cauda epididymidis of laboratory mice. *Asian J Androl* 2010;12:591–8. <https://doi.org/10.1038/aja.2010.41>
44. Saikhun J, Kitiyanant Y, Vanadurongwan V, Pavasuthipaisit K. Effects of sauna on sperm movement characteristics of normal men measured by computer-assisted sperm analysis. *Int J Androl* 1998;21:358–62.