Erkek Kedilerde Üreme Organları, Spermanın Alınması ve Spermatolojik Muayeneler

Nurdan COŞKUN

Can TOPALOĞLU

Fikret KARACA

1. Giriş

Kedilerin M.Ö. 3000-6000 yıllarında Mısır, Mezopotamya, Anadolu ve Eski Harapan uygarlığında evcilleştirildiği arkeolojik çalışmalarda belirtilmiştir (Odabaşıoğlu & Ateş, 2000). Değerli evcil kedi ırklarının ve taksonomik olarak evcil olmayan kedi türlerinin genetik olarak korunması önemlidir. Kedilerin üreme fizyolojisi hakkında daha fazla bilgi edinilmesi, evcil olmayan kedilere potansiyel olarak uygulanabilecek tekniklerin geliştirilmesinde zorunludur. Gametlerin dondurularak saklanması, yardımcı üreme programlarında önemli bir araçtır; suni tohumlama ya da *in vitro fertilizasyonun* (IVF) ileri bir tarihte yapılması gerektiğinde oositlerin veya spermatozoanın uzun süreli depolanması gerekli kılmaktadır. Kedi ırkları arasındaki coğrafi mesafe, erkek ve dişi gametlerin aynı anda bulunamaması gibi olumsuzluklar, gametlerin dondurularak saklaması çalışmalarını önemli hale gerektirmektedir. Gametlerin dondurulması ile ilgili çalışmalarda, çeşitli prosedürler araştırılmış olmasına rağmen kedilerde spermatozoa veya oositler için optimal kriyoprezervasyon teknikleri henüz gerçekleştirilmemiştir. Evcil kedi spermatozoası ve oositleri diğer türlerle karşılaştırıldığında kendine özgü bir takım fiziksel özelliklere sahiptir. Öte yandan diğer evcil türlerde olduğu gibi erkek kedi spermasını suni vajen kullanarak veya elle masaj yaparak toplanması oldukça zordur. Bu zorluklar dondurulmuş kedi sperma bankasının kuruluşunda pek çok engele neden olmaktadır (Sojka, Jemings & Hamner, 1970; Axnér,

Hermansson & Linde-Forsberg, 2004; Siemieniuch & Dubiel, 2007). Suni tohumlama ve yardımcı üreme teknikleri birçok hayvan türünde yaygın olarak uygulanırken, kedilerde henüz araştırılma düzeyindedir. Günümüzde kedilerde suni tohumlamanın etkinliğini artırmaya yönelik çalışmalar halen devam etmektedir. Kedilerde ilk başarılı suni tohumlama 1970 yılında yapılmış olmasına karşın köpeklere kıyasla kullanımı yaygınlaşmamıştır. Kedilerde davranışsal ve fiziksel östrus belirtiler, proöstrus saldırganlığı, sperma toplama teknikleri, sperma hacmi, tohumlama için uygun zamanın belirlenmesi, ovulasyonların uyarılması ve sedasyon prosedürlerinin kontrendikasyonu gibi etmenler suni tohumlama uygulamaları sınırlandırmaktadır (Güngör, 2023).

2. Erkek kedilerde üreme organları

Erkek üreme organları; hormon ve spermatozoa üretimi, spermatozoonların taşınması, spermatozoonların fonksiyonel bütünlüğüne ve yaşamalarına yardımcı olan seminal sıvıların salgılanması ve spermanın dişi üreme organlarına iletilmesi gibi işlevlere sahiptir. Erkek genital organlar; skrotum, testisler, epididimis, duktus deferens, prostat bezi, bulbo üretral bezler, üretra, penis ve prepusyumdan oluşmaktadır (Çebi, 2023; Davidson & Baker, 2009). Erkek kediler 38 kromozom sayısına ve XY kromozom bütünlüğüne sahiptir (Root & ark., 1996).

Üreme organlarının anatomisi

Scrotum

Scrotum, derinin devamı olup, düz ve ince yapıya sahiptir, anüsün birkaç santimetre altında bulunur ve tamamen kıllarla kaplıdır (Christiansen, 1984; Demirci, 1994).

Testisler

Yetişkin erkek kedilerde testisler, küre-oval yapılı 1.5x1x1 cm boyutlarında, 2-4 g ağırlığındadır (Scott & Scott, 1957). Testisler 12-14 haftalık yaşta skrotum içinde kalıcı pozisyon alırlar (Christiansen, 1984). Testosteron salgılanması

ve spermatogenezisten sorumludur (Yavaş, 2018). Kedilerde skrotal kese anüsün ventralinde, prepusyumun dorsalinde bulunur ve kuyruk kaldırıldığında görülebilir. Testisler skrotum içinde peritondan köken alan tunika vajinalis adı verilen çift katmanlı bir bağ doku tarafından sarılır. Testis paranşiminin çoğunluğunu, kıvrımlı seminifer tubüller ve sertoli destek hücreleri oluşturur. Spermatogenezis seminifer tubullerde meydana gelir. Spermatogenezis siklüsü kedilerde ortalama 45 gün kadar sürer. Testislerin doğumdaki ağırlığı 20 mg kadardır. Pubertaya eriştiğinde 500 mg ulaşmaktadır. Normal olarak yavru bir kedi testisleri doğumla beraber scrotuma iner ve pubertaya kadar (7-10 ay) inguinal kanalda aşağı yukarı serbestçe hareket eder (Çebi, 2023; Scott & Scott, 1957; Sojka, 1980). Testis ve epididimis ölçüleri ile ağırlıkları 3-5 aylık yaşta belirgin bir şekilde artmaktadır. 5 aylık yaşta testosteron salgısı ve spermatogenezis başlamakta ve 6-7 aylık yaşta tubullerde spermatozoonların bulunabildiği kaydedilmektedir (Christiansen, 1984).

Epididimis

Epididimisler, testislerin proksimalinden distaline kadar bütünleşik pozisyonda yerleşmiş konumdadır. Anatomik olarak kaput, korpus ve kauda olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır (Axnér, 2006). Kaput bölümü testisin kranial kenarının dorsomedial kısmında, korpus testisin dorsolateralinde seyreder ve kauda ise testisin dorsokaudal kısmında yer alır (Johnson, 2022). Mezonefrik kanaldan köken alan epididimal kanal (duktus epididimis), epididimis bölümleri içerisinde kıvrımlı şekilde seyreder. Duktus epididimis, konumdan ziyade işleve dayalı olarak başlangıç, orta ve terminal segment şeklinde tanımlanmaktadır. Başlangıç ve orta segmentlerin spermanın olgunlaşmasında, terminal segmentin ise ejakulasyon öncesinde spermanın depolanması işlev yaptığı kaydedilmektedir (Axnér 2006). Kedilerde epididimis kanalının uzunluğu 4-6 m kadardır (Çebi, 2023).

Duktus deferens

Ductus epididimis kauda epididimisten ayrıldıktan sonra dorsal olarak duktus deferens adını alır (Johnson, 2022). Duktus deferens, testisler tarafından üretilen spermatozoonları ve sıvıları kanal duvarının güçlü kasılmaları yardımıyla epididimisten üretraya kadar taşıyan bir çift kanaldır (Hewitt, 1998). Kedilerde duktus deferens, uretra ile birleşimden önce bir genişleme (ampulla) oluşturmaz.

Üretra

Üretra, idrar kesesinden penisin ucuna kadar uzanan sperma ve idrarın atılmasını sağlayan kanaldır. Erkek kedilerde idrar kesesinin boynu ile prostat bezi arasında kısa bir preprostatik üretra vardır. Penis üretrası kısadır ve arkus işiakusdan daha ileriye uzanmaz, uretranın çıkış kısmı kaudal yönde ve anüsün ventralinde bulunur. Bu pozisyon, tomcat'in diğer kedilerin burun hizasında dikey yüzeylere idrar püskürterek bölgesini kokuyla işaretlemesini sağlamaktadır (Higgs, 2023).

Prostat

Kedilerde prostat idrar kesesinin yaklaşık 2-3 cm kaudalinde yer alır, iki kranial ve iki kaudal lobdan (her biri 1 cm uzunluğunda) oluşur ve üretrayı dorsal ve lateral olarak çevreler (Johnson, 2022). Ultrasonografik olarak, prostatın kraniokaudal ve transversal boyutlarının ortalama değerleri sırasıyla 1.2 ve 2.2 cm olması nedeniyle şekli enlemesine oval olarak görüntülenmektedir. Prostat çevresi ortalama 5.5 cm ve alanı ise 2.2 cm^2 dir (Dimitrov, Yonkova & Georgiev, 2005). Prostat bezi ejakülattaki sıvının büyük kısmını oluşturur. Ejakülatın hacminin artırılmasında ve sulandırılmasında rol oynar. İçeriğinde protein-lipid kompleksi, çinko, asit fosfataz, laktat, kolesterol ve çeşitli enzimler bulunmaktadır. Kedi prostatı, köpeklerdeki gibi üretranın ventral yüzünü kaplamaz (Christiansen, 1984). Prostat androjenlere bağımlıdır ve bu yüzde kastrasyon takiben atrofiye olur (Johnson, 2022).

Bulboüretral bez

Bulbourethral bezler, üretranın her iki yanında, penisin tabanında, arkus işiadikusun yakınında ve anüsün distalinde bulunan bir çift organdır. Ultrason görüntülemelerinde bezin dorsoventral boyutu (yükseklik) 6,4 ila 7,6 mm arasında, lateral boyut (genişlik) ise 5,4 ila 6,5 mm arasında değiştiği kaydedilmektedir. Bulboüretral bezlerin şekli dorsoventral olarak oval görünümdedir. Erkek kedide major ek salgı bezi glandula bulboüretralis bezidir (Christiansen, 1984; Hewitt, 1998; Dimitrov & Russenov, 2006).

Penis

Çiftleşme organı penis, spermanın vaginaya bırakılmasından sorumludur (Çebi, 2023). Penis skrotumun ventralinde prepusyum içinde bulunur, 5-8 cm uzunluğunda ve kaudo-ventrale dönük pozisyondadır. Çiftleşme sırasında penis şişer ve kranioventral yönde kıvrılır, böylece çiftleşme pozisyonu diğer memelilerde görülen pozisyonu alır. İdrarın ve spermanın boşaltılmasında görev almaktadır. Kedi penisi vasküler özellikte olup üretranın ventralinde erektil doku içinde kemiksi (os penis) bir yapı bulunur (Christiansen, 1984; Çoyan & ark., 2002; Aspinall, 2011). Glans penis konik şekillidir (Christiansen, 1984). Yapısında her iki yanda korpus kavernozum penis ve medialde korpus spongiosum penis bulunmaktadır. Penisin son kısmı serbesttir. (Root & ark., 1996). Glans peniste 6-8 adet halka şeklinde sıralanmış 0.5- 1 mm uzunluğunda konik yapılı, kaudale doğru dönük 120-150 adet penil çıkıntı bulunmaktadır, 6-7 aylık yaşta bu yapılar tamamlanırlar. Penis üzerindeki kornifiye papillalar dişilerde vajinanın iç duvarını uyararak ovulasyonu sağlayabilmektedir (Kaya & Daşkın, 1997). Yetişkin erkek kediler kastre edildiklerinde penil çıkıntılar 5-6 haftada gerilerler (Hewitt, 1998). Kedilerde muskulus cremaster bulunmamaktadır bu kas yerine muskulus levator skroti adında anal sfinkter kökenli bir çizgili kas bulunmaktadır (Martin, Fletcher & Brandley, 1974).

Prepusyum

Prepisyumun dış kısmı tüylü bir deri ile iç kısmı ise müköz membran ve yağ bezleri ile kaplı olup, penise koruyucu örtü görevi yapar. Penis erekte olmadığı zaman tamamen prepusyum içerisindedir. Kedilerin prepusyumu kalın ve kısadır. Doğumda prepusyumun ve penisin epitel yüzeyi frenulum preputi ile bağlantılıdır ve prepusyumun penisten ayrılması ergenlikte meydana gelir (Aspinall, 2011; Çebi, 2023).

Üreme organlarının fizyolojisi

Evcil dişi kediler mevsime bağlı üreme özelliği gösterirken, erkek kedilerde üreme faaliyetlerinin yıl boyu devam ettiği belirtilmektedir. Ancak erkek kediler ile ilgili görüşler çelişkilidir (Axner & Linde-Forsberg, 2007; Blottner & Jewgenow, 2007; Tsutsui & ark., 2009). Mevsimsel değişimler evcil erkek kedilerde sperm miktarı ve hormon üretimini orta düzeyde etkilediği, sperm fonksiyonunda da ihmal edilemeyecek yıllık değişimler olduğu kaydedilmektedir (Blottner & Jewgenow, 2007). Erkek kedilerin spermatogenezisinde diğer hayvanlarda olduğu testesteron, FSH, LH ve Androjen Bağlayıcı Protein (ABP) etkilidir (Yavaş, 2018). Yetersiz beslenme, çevre ısısı, sık çiftleşme ve günlük ışık miktarı gibi faktörler sperma üretimini etkilemektedir (Kaya & Daşkın, 1997). Spermatogenezis erkek kedilerde 20 haftalık yaşta başlar, 30 hafta civarında spermatidler testisler içinde belirgin olarak görülürler (Scott & Scott, 1957). Erkek kedilerde spermatogenez fonksiyonu 8-10 aylıkken olgunlaşır. Spermatogenezis, hipotalamustan salgılanan GnRH'ın etkisiyle hipofizde oluşan gonadotropik hormonların denetimi altındadır. LH testisin interstisyel dokusunda bulunan Leydig hücrelerini uyararak testosteron salınımını sağlar. Kan ve lenf yoluyla tubulusların lumenine gelen testosteron ve dihidrotestosteron gibi androjenler, FSH'nın etkisiyle Sertoli hücrelerinden salgılanan Androjen Binding Protein (ABP) ile birleşir ve bu sayede spermatogenezis başlar. Androjenler hipotalamus ve hipofize yaptıkları uyarımlarla LH salınımını kontrol ederler (İleri & ark., 1998). Spermatogenezisin gerçekleşebilmesi için ortalama olarak 62 gün gerekmektedir (Hewitt, 1998). Kedilerde

günlük sperm üretiminin $16x10^6$ olduğu bildirilmiştir (França & Godinho, 2003). Erkek kedilerde reprodüktif aktivitenin 14 yıl kadar sürdüğü ve optimum dölverimi yaşının 4-6 yaş olduğu bildirilmektedir (Christiansen, 1984).

3. Spermanın toplanması

Kedilerden sperma yaygın olarak elektroejakülasyon ve suni vajen yöntemi ile toplanmaktadır. Ayrıca, epididimislerin dilimlenmesi, üretral kateterizasyon ve rutin orşiektomi sonrası erkeklerden spermanın elde edilebilmesi avantajı nedeniyle araştırmalarda kullanılmaktadır. Erkek kedigillerin fertilite değerlendirmesinde spermanın analizi esastır, ancak spermanın elde edilmesi zordur ve elde edilen hacim düşüktür. Erkek kedilerden spermanın alınması ve dişi kedinin tohumlanması diğer evcil türlerle kıyaslandığında oldukça zordur. Bu sebeple diğer bazı türlerde olduğu gibi kedilerde sperma bankası tam olarak kurulamamıştır. Kedilerde hala sperma alınması ve tohumlama rutin bir işlem haline gelememiştir. Tüm zorluklara rağmen genetik materyallerinin korunması ve evcil kedilerin üreme sorunlarının çözülebilmesi için kedilerden sperma alınması gerekmektedir (Siemieniuch & Dubiel, 2007; Yavaş, 2018).

Sperma erkek hayvandan, teşhis ve araştırma ayrıca suni tohumlamada kullanım amacıyla toplanmaktadır. Suni tohumlamada hem taze hem de dondurularak saklanmış sperma kullanılabilir. Dondurularak saklanan sperma, coğrafi mesafeyi ortadan kaldırmak, ölü veya yaralı donörlerin spermasını kullanmak ve tekrarlanan deneysel manipülasyonlar için yeterli materyal sağlamak gibi avantajlara sahiptir (Zambelli & Cunto, 2006).

Suni vajen yöntemi

Suni vajen ile sperma toplanması ilk kez Sojka, Jemings & Hamner (1970) tarafından rapor edilmiştir. Erkek kedide suni vajen kullanımının en iyi sperma alma tekniği olduğu bildirilmektedir (Jordan & ark., 1999). Ancak bu yöntemde

kedinin alıştırılması gerektiği ve bazı erkek kedilerin suni vajene asla yanıt vermeyebileceği ifade edilmektedir. Kediler suni vajen yöntemi ile sperma toplanmasına yaklaşık %85 oranında alıştırılabildiği ve bunun için 3.8±3.1 eğitim seansı gerektiği belirtilmektedir (Ackermann & Lopes, 2015). Suni vajen kullanımı genellikle iyi kalitede ejakülatın toplanmasını sağlar fakat kedilerin mizacından dolayı bu yöntem sınırlıdır. Bu yöntemin avantajları arasında düşük maliyet, fiziksel veya kimyasal sınırlamaya gerek olmaması ve toplama işleminin tek bir teknisyen tarafından yapabilmesi sayılabilir. Suni vajen kullanımı sperma vermeye alıştırılmış bir erkek kedi ile kızgınlık dönemindeki dişi veya östrojen uygulanmış kısırlaştırılmış bir dişi varlığında uygulanabilmektedir (Sojka, 1986). Alıştırma periyodu ortalama 2 hafta almaktadır. Haftada 3 kez spermanın toplanmasına izin vermektedir. Erkek kedide genital bölge temizlenir ve erkeğin dişiye atlamasına izin verilir, penis erekte olduğunda suni vajene yerleştirilerek sperma toplanır. İşlem tek bir teknisyen tarafından gerçekleştirilebilir. Suni vajen ısısı 44 °C'lik olmalı ve vazelin ile kayganlaştırılmalıdır bu yöntem ile 1- 4 dk. içinde sperma alınabilir (Kaya & Daşkın, 1997). Platz, Wildt & Seager (1978) suni vajen kullanılarak toplanan numunelerde yoğunluk ve motilitenin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Alınan sperma hacmi az olduğu için hemen uygun sulandırıcı ile sulandırılmalıdır (Tanaka & ark., 2000). Bu yöntemle ortalama 0.04 ml, $57x10^6$/ml yoğunlukta ve %80–90 motilitede sperma elde edilebilmiştir (Sojka, 1980; Christiansen, 1984).

Elektroejakülasyon yöntemi

Kedilerde elektroejakülatör ile spermanın alınması ilk olarak Scott (1970) tarafından rapor edilmiştir. Bu yöntem etik açıdan birçok ülkede yasaklanmıştır. Üstelik gerekli ekipmanlar pahalıdır ve birçok kedi sahibi bu yöntemin uygulanması konusunda isteksizdir (Rijsslaere & Van Soom, 2012). Elektroejakülasyon yönteminde erkeğin eğitilmesine (alıştırılmasına) veya kızgın dişiye gereksinim olmamaktadır. Elektroejakülatör ile güvenli bir şekilde anestezi yapılabilecek

her erkek kediden sperma alınabilir. Elektro-ejekülasyon yönteminde penisin ereksiyonu ve ejakülasyonunu sağlayan sinirler uyarılmaktadır, meydana gelen kas kontraksiyonları sonucu ductus ejakülatoryus içindeki seminal sıvının ilerleyerek dışarı dökülmesi ilkesine dayanmaktadır.

Bu yöntemin uygulanmasında anesteziye ihtiyaç duyulması ve ekipman maliyeti ana dezavantajlarıdır. Ayrıca, kullanılan anestezi protokolünün sperma kalitesine etkisi de olabilmektedir. Elektro-ejakülasyon uygulanan kedilerde en sık kullanılan anestezik, tek başına (20 mg/kg intramüsküler olarak) ya da medetomidin (5 mg/kg intramüsküler olarak) ile **80 g**/kg intramüsküler olarak uygulanabilen ketamindir. Elektroejakülasyon ile spermanın toplanmasında hacim ve yoğunluk bakımından önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Kedilerde, tekrarlanan anestezi ve elektriksel uyarıların, ejakülasyon kapasitesini değiştirdiğine ya da zararlı etkiler görüldüğüne dair literatür bildirimleri bulunmamaktadır. Bu yöntem ile alınan spermada yoğunluk, stimülasyonun voltajına ve elektriksel uyaranların sayısına bağlı iken hacim voltajdan etkilenmemektedir (Pineda, Dooley & Martin, 1984; Pineda & Dooley, 1984). Spermanın ozmolalitesinin kediden veya sperma toplama yönteminden etkilenmediği saptanmıştır. Suni vajen yöntemi ile elde edilen sperma örneklerinin hacmi elektroejakülasyon yöntemi yöntemine göre daha düşük, spermatozoon yoğunluğunun ise daha fazla olduğu bildirilmektedir (Dooley & Pineda, 1986).

Üretral kateterizasyon yöntemi

Yöntem muhtemelen günlük pratikte erkek kedilerden spermanın alınmasında en pratik ve en az invazif prosedür olduğu kaydedilmektedir (Rijsslaere & Van Soom, 2012). Üretral sperma toplama tekniği, sedasyon ve deferent kanaldaki adrenoreseptörleri uyaran ve spermayı penil üretraya salan bir α2-adrenerjik agonistin uygulanmasından sonra penil üretraya 1.3 mm'lik bir kateter yerleştirilmesiyle uygulanmaktadır. Spermanın toplanmasında üretranın yaklaşık 5 cm içine bir idrar

sondası yerleştirilerek insülin şırıngası vasıtasıyla spermanın alınması da sağlanabilir. Üriner katater ile cauda epididimisten sperma toplanabilmektedir. Yöntem uygulanırken idrar kesesine girmemeye dikkat edilmeli ve kateter yaklaşık 9 cm ilerletilmelidir (Yavaş, 2018). Toplanan spermada idrar ve seminal sıvının spermatozoanın dölleme yeteneğini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir. Alınan spermanın çok düşük hızda (300 g) santrifüj edilmesi ve elde edilen pelletin kullanılması ve uygun bir sulandırıcı ile sulandırılması tavsiye edilmektedir (Pineda, Dooley & Martin, 1984).

Üretral kateterizasyon tekniğinde herhangi bir özel ekipman gerektirmemektedir ve suni vajen ve elektro-ejakülasyon tekniklerine göre avantajlara sahiptir. Medetomidin ve deksmedetomidin, evcil kedilerde ejakülasyonu tetiklemek için kullanılan α2-adrenerjik agonisttir. Üretral kateterizasyon yoluyla elde edilen sperma, elektro-ejakülasyon yoluyla elde edilenlerle karşılaştırıldığında daha düşük bir hacme sahiptir ancak sperm konsantrasyonu daha yüksektir (Mphaphathi & ark., 2024).

Epididimislerden spermanın toplanması

Kastrasyondan sonra testisler ve epididimisler toplanarak petri kabına yerleştirilir. Epididimisler testislerden ayrılır, spermatozoanın 10 dakika boyunca Hepes TALP veya fizyolojik salin solüsyonu içeren sulandırıcıya geçişine izin verilir. Bu karışım santrifüjlenir. Bu prosedür oldukça kolaydır ve in vitro fertilizasyon işlemlerinde rutin olarak gerçekleştirilir (Filliers & ark., 2008). Bu yöntemin uygulanması basittir ancak rutinde kullanımı sınırlıdır ve aynı erkekten tekrarlı sperma toplanmasına olanak tanımamaktadır (Zambelli & ark., 2004). Araştırma amaçlı, nadir bulunan ve yabani kedilerin spermalarının toplanabilmesi için tek ve en pratik yöntemdir (Hewitt, 1998). Spermin olgunlaştığı ve motilite kabiliyetini kazandığı yer olan epididimis kısmından spermanın toplanması işlemi, değerli damızlık kedilerinden özellikle de ejakülasyon gerçekleştiremeyen, kastrasyona ihtiyaç duyulan veya ölüm

sonrası kedilerin genetiğini korumak için kullanılabilen bir protokoldür. Bu teknik özellikle ölü veya yaralı hayvanlarda faydalıdır. Epididimislerden toplanan spermanın dezavantajı, olgunlaşma epididimislerde ve vas deferenslerde meydana geldiği için morfolojik anormalliğin daha fazla olmasıdır (Howard & ark., 1990).

Diğer sperma toplama yöntemleri

Diğer sperma toplama yöntemleri olarak; sperma dişi kediden vajinal lavaj ile ya da erkek kediden sistosentez sonrası idrardan sperm toplanması şeklinde gerçekleştirilebilir. Bu yöntem pratik değildir ve klinik kullanımı uygun olmamaktadır. Bu işlem için sedasyon gereklidir ve lavaj sırasında kullanılan sıvı ve vaginal akıntıların spermaya karışması spermatolojik kaliteyi düşürmektedir. Lavaj işleminde %0.9'luk NaCl kullanılır (Hewitt, 1998).

4. Kedilerde Spermatolojik Muayeneler

Kedigillerin genel olarak sperma kalitesi düşüktür; (Wildt & ark., 1986) her popülasyonda genetik çeşitliliğin korunması ve akraba olmayan hayvanların suni tohumlamada kullanılması ile iyileşme sağlanabilir (Pope & ark., 1991; Pope, 2000). Kedilerde etkili bir suni tohumlama önündeki engel, taze spermada bile morfolojik olarak anormal sperm yüzdesinin yüksek olmasıdır ve bu oranın dondurma/çözdürme protokollerinden sonra artmasıdır (Axnér, Hermansson & Linde-Forsberg, 2004; Siemieniuch & Dubiel, 2007).

Kedi ejakülatının hacminin düşük olması, diğer türlerde kullanılan bazı teşhis prosedürlerinin kedilerde yapılmasını güçleştirmektedir. Ancak sperma en azından görünüm ve hacim gibi makroskobik parametreler ile motilite, morfoloji, konsantrasyon ve canlılık gibi mikroskobik parametreler açısından değerlendirilmelidir. Bu parametreler genellikle rutin bir spermiogram için değerlendirilir ancak bazen membran bütünlüğünün, pH, osmolalite, sperm kültürü ve seminal

biyokimyanın da değerlendirilmesi gerekli olabilir (Zambelli & ark., 2004).

Spermanın makroskobik muayenesinde miktar, renk, kıvam, koku ve pH değerlendirilirken, mikroskobik muayenede motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranları değerlendirilmektedir.

Sperma hacmi

Sperma miktarı bir ejekülasyonla dışarıya verilen spermanın hacmidir. Hacim derecelendirilmiş sperma alma kadehi ya da ölçüm pipetleri ile ml olarak belirlenir (Tekin, 1994). Sperma hacminin belirlenmesinde kedilerde otomatik pipetler (100 mikrolitreye) kullanılır (Platz & Seager, 1978). Kedilerdeki sperma hacmi 0.01-0.7 ml arasındadır (Kustritz Root, 2014; Johnstone, Root Kustritz & Olson, 2001).

Renk

Spermanın normal rengi krem beyazdır ve homojen görünümde olmalıdır, rengin yoğunluğu spermatozoanın konsantrasyonunu yansıtır. Spermada sarı renk idrar veya irin varlığında, kırmızı renk ise kanama durumunda tespit edilebilir. Spermada normalin dışında renk görülmesi genital organlarda anormal bir durumun olduğunun ya da yabancı madde kontaminasyonunun göstergesidir (Tırpan, 2023a, 2023b).

Motilite

Motilite faz kontrast mikroskobuyla subjektif olarak progressif ve yüzde (%) motilite şeklinde değerlendirilmektedir. Progresif motilite, spermatozoonların ileriye doğru hareketlerinin 0 – 5 arasında değişen (0= hareket yok, 5= ileri doğru güçlü hareket) sabit bir ölçeklendirme ile belirlenir. Progressif motilite spermatozoonların hareket kalitesinin değerlendirilmesidir. Sperm motilitesi; ısıtılmış lam üzerine 10 mikro L taze sperma örneği alınır. Sperma örneği faz kontrast mikroskopta 100 ve 400 büyütmede ve en az dört farklı saha incelenerek % ortalaması hesaplanır. Motilite değeri kedilerde

%60-%90 arasında değişmektedir. Sperma örneğinde hem % motiliteye hem de ilerleyici motiliteye eşit vurgu yapmak için sperm motilite indeksi (SMI) belirlenir. SMI = 0.5 x [(progressive motility x20) + (% sperm motility)] formülü ile hesaplanır. Günümüzde sperm motilitesi Bilgisayar Destekli Semen Analizi (CASA) cihazı ile de değerlendirilmektedir (Johnstone, Root Kustritz & Olson, 2001; Zambelli & Cunto, 2006; Gañán, Gomendio & Roldan, 2009; Kustritz Root, 2014).

Spermatozoon yoğunluğu

Birim hacim spermada bulunan sperm sayısıdır (İnanç, 2023). Sperm yoğunluğu hemositometre, spektrofotometri ve CASA ile belirlenebilmektedir. Kedilerden alınan sperma; 1 kısım sperma ve 9 kısım formal buffer saline olacak şekilde sulandırılır (1:10). Bu solüsyondan 1 kısım alınır, tekrar 9 kısım formal buffer saline solüsyonuna ilave edilerek (1:100) değerlendirme yapılabilmektedir. Kedilerde spermatozoon yoğunluğunun 13-143x10^6/ml arasında değiştiği ortalama 43x10^6/ml olduğu kaydedilmektedir (Kustritz Root, 2010; Uslu, 2023). Muayenelerde sperm konsantrasyonu genellikle 1:10, 1:25, 1:50 veya 1:100 sulandırma uygulanarak değerlendirilmektedir. Spermatozoon yoğunluğu ırka, sperma toplama yöntemine ve bireysel farklılıklara bağlı olarak değişebildiği, hatta aynı bireyden farklı zamanlarda alınan ejakülatlar arasında da farklılıklar görüldüğü bildirilmektedir alınabilir (Çoyan & ark., 2002).

Morfoloji

Spermanın morfolojik değerlendirilmesinde eozin nigrozin, Diff-Quick veya diğer boyama yöntemleri ile 10 µl sperma örneği kullanılarak değerlendirilir. Spermatozoadaki anormal yapılar primer ve sekonder defektler şeklinde sınıflandırılmakta, primer defektler (çift baş, çift kuyruk, başta şekil bozuklukları, proksimal sitoplazmik damlacıklar ve orta kısım bükülmesi) spermatogenezis sürecinde, sekonder defekler (kopmuş başlar, distal sitoplazmik damlacıklar ve kuyruk kıvrımları) ise enfeksiyon orjinli ya da ejakülasyon sonrası

yapılan maniplasyon ve işlemler sırasında şekillenen anormalitelerdir. Kedi spermasında en sık karşılaşılan anormallikler, sitoplazmik damlacık, orta parçanın bükülmesi, kıvrık kuyruk anormallikleridir. Kedilerde Morfolojik olarak normal spermatozoaların ortalama oranı %71 olarak kaydedilmektedir (Kustritz Root, 2010).

Azalan genetik çeşitlilik ve düşük testosteron konsantrasyonları durumunda teratospermi durumunda spermatozoonların %60'ından fazlası morfolojik olarak anormal olabilmektedir. Morfolojik değerlendirmede; kedi spermatozoasının oval bir kafası, belirgin bir orta parçası ve uzun bir kuyruğu vardır. Evcil kedilerde teratospermi, morfolojik olarak normal spermlerin ejakülatta %40'tan az bulunması durumudur (Johnson, 2022; Uslu, 2023).

Ölü spermatozoon oranı

Spermadaki ölü ve canlı spermatozoonları belirlemek için çeşitli hücre ve florokrom boyalar kullanılır. Değerlendirmeler kullanılan boyaların özelliklerine göre faz kontrast, floresan mikroskopları, CASA sistemi ve akış sitometri (flow-cytometry) aygıtları yardımı ile yapılabilmektedir. Ölü-canlı spermatoza oranı, eosin ve eosin–nigrosin boyama yöntemleri ile pratik olarak belirlenir. Bu yöntemde ölü spermatozoonlar boyayı alır, canlı spermatozoonlar ise boya almazlar. Genellikle eosin ve eosin–nigrosin gibi hücre boyamaları ile hazırlanan preparatlar, faz kontrast mikroskopta değerlendirilir. Lam üzerine 2-3 damla boya solüsyonu, yanına bir damla sperma konularak karıştırılır, daha sonra froti çekilir ve kurumaya bırakılır. Hazırlanan froti örneği faz kontrast mikroskopta incelenerek 200-400 adet spermatozoon sayılır, ölü-canlı spermatozoa oranı yüzde olarak ifade edilir (Zambelli & Cunto, 2006; Tırpan, 2023b).

Osmolalite ve pH

Kedi spermasının pH'sı 7.5'dir. Sperma alma yöntemi bazı spermatolojik özellikleri etkilemektedir (Kaya & Daşkın,

1997). Johnson, Osborne & Lipowitz (1988) seminal plazmanın, bulboüretral ve prostat sıvılarının ortalama osmolalite ve pH değerlerini sırasıyla 323, 327 ve 331 mOsm/L ve 6.6, 6.7, 7.8 olduğunu bildirmişlerdir.

Mitokondriyal DNA bütünlüğü

Mitokondriyal fonksiyonun değerlendirilmesi motilitenin tahmininde kullanılabilir. Mitokondri, sperm hareketi için önemli bir enerji kaynağıdır. Çoğu zaman motilitenin azalması mitokondriyal membran bütünlüğündeki kusurlarla ilişkilendirilmektedir (Mphaphathi & ark., 2024).

Plazma membran bütünlüğü (HOS test)

Plazma membran bütünlüğünün belirlenmesinde düşük ozmotik basınçta (60-100 mOsm) speratozoaların reaksiyon vermesi değerlendirilir. Fonksiyonel olarak sağlam ve canlı spermatozoonda hipoozmotik ortamda hücre içine su alır, plazma membranında ve kuyruk kısmında şişmeler görülmektedir. Hipoozmotik solüsyon olarak 9 g fruktoz, 4,9 g sodyum sitrat, 1 L distile su karışımı kullanılır. Test edilecek sperma örneği bu solüsyon ile 37 ºC'de inkübe edildikten sonra mikroskop altında 200-400 adet spermatozoon sayılarak şişen ve kuyruğu kıvrılan hücrelerin oranı değerlendirilir (İnanç, 2023; Tırpan, 2023b).

Kaynaklar

Ackermann, C.L. & Lopes, M.D. (2015). Training tom cats for semen collection using an artificial vagina: a retrospective study. *Journal of Feline Medicine and Surgery. 22*(12), 1155-1159.

Aspinall, V. (2011). Reproductive system of the dog and cat Part 2-the male system. *Veterinary Nursing Journal. 26* (3), 89-91.

Axner, E, Hermansson, U, Linde-Forsberg, C. (2004). The effect of Equex STM paste and sperm morphology on post-thaw survival of cat epididymal spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci. 84*, 179-191.

Axner, E, Linde-Forsberg, C. (2007). Sperm morphology in the domestic cat, and it relation with fertility: a retrospective study. *Reprod Domest Anim 42*, 282-291.

Axnér, E. (2006). Sperm maturation in the domestic cat. *Theriogenology*, *66*(1), 14-24.

Blottner, S. & Jewgenow, K. (2007). Moderate Seasonality in Testis Function of Domestic Cat. *Reprod Dom Anim 42*, 536-540. Doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00817.x

Christiansen, I.J. (1984). *Reproduction Dog and Cat.* 1st Ed. (s. 225-262). London: Billiere and Tindall.

Çebi, Ç. (2023). Erkek kedilerde reprodüktif anatomi ve fizyoloji. Soylu M.K. (Ed.), *Hayvanlarda reprodüksiyon, androloji ve yardımcı üreme teknikleri* içinde 1. Baskı. (s.654-656). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.

Çoyan, K, Ataman, M.B, Kaya, A, Karaca, F. (2002). *Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama.* Konya: Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları.

Davidson, A.P. & Baker, T.W (2009). Reproductive Ultrasound of the Dog and Tom. *Topics in Companion Anim Med. 24*:2, 64-70.

Demirci, E. (1994). Erkek üreme organlarının muayenesi. *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tohumlama, Doğum ve İnfertilite* içinde. Birinci Baskı, (s.61-67), Konya: Dizgievi.

Dimitrov, R, Russenov, A. (2006). Ultrasonographıc Features of Felıne Bulbourethral Glands. *Trakia Journal of Sciences. 4* (1), 18-21.

Dimitrov, R., Yonkova, P., & Georgiev, P. (2005). Ultrasonographic features of prostate gland in the cat. *Acta Morphologica and Antropologica*, *10*, 99-103.

Dooley, M.P, Pindeda, M.H. (1986). Effect of Method of Collection on Seminal Characteristics of The Domestic Cat. *Am J Vet Res. 47*, 286-292.

Filliers, M., Rijsselaere, T., De Causmaecker, V., Bossaert, P., Dewulf, J., Pope, C.E., Van Soom, A. (2008). Computer-assisted semen analysis of fresh epididymal cat spermatozoa and the impact of cooled storage (4°C) on sperm quality. *Theriogenology. 70, 1*550-1559.

França, L.R, Godinho, C.L. (2003). Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length, and daily sperm production in domestic cats (Felis catus). *Biol Reprod. 68*, 1554-1561.

Gañán, N., Gomendio, M, Roldan, E.R.S. (2009). Effect of storage of domestic cat (Felis catus) epididymides at 5-8C on sperm quality and cryopreservation. *Theriogenology. 72*,1268-1277.

Güngör, Ş. (2023). Kedilerde reprodüksiyon yönetimi ve en uygun suni tohumlama zamanının belirlenmesi. Taşdemir U (Ed.) *Evcil Hayvanlarda, Laboratuvar Hayvanlarında Reprodüksiyon Yönetimi ve Evcil Hayvanlarda En Uygun Suni Tohumlama Zamanının Belirlenmesi* içinde. (s.48-53). 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri.

Hewitt, D. (1998). Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology. G. Simpson (Ed.). *Physiology and Endocrinology of the Male* içinde (s.61-69). British Small Animal Veterinary Association.

Higgs, V. (2023). Urinary Tract Blockage in Cats. (03/11/2024 tarihinde https://www.petmd.com/cat/conditions/urinary/urinary-tract-blockage-cats. Adresinden ulaşılmıştır.).

Howard, J.G, Brown, J.L, Bush, M, Wildt, D.E. (1990). Teratospermic and normospermic domestic cats: ejaculate traits, pituitary-gonadal hormones, and improvement of spermatozoal motility and morphology after swim-up processing. *J Androl. 11*, 204-215.

İleri, İ.K, Ak, K, Pabuçcuoğlu, S, Birler, S. (1998). *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama.* Ders Notu No: 84, İstanbul: İ.Ü. Veteriner Fakültesi Masaüstü Yayımcılık.

İnanç, M.E. (2023). Sperma kalitesinin in vitro değerlendirilmesi. Soylu M.K. (Ed.). *Hayvanlarda reprodüksiyon, androloji ve yardımcı üreme teknikleri. 1. Baskı* içinde (s.102-103). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.

Johnson, A.K. (2022). Normal feline reproduction: The tom. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. *24*(3), 212-220.

Johnston, S.D, Osborne, C.A, Lipowitz, A.J. (1988). Characterization of seminal plasma, prostatic fluid and bulbourethal gland secretions in the domestic cat. *Proceedings of the 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, vol. IV*, s.560.

Johnstone, S.D, Root Kustritz, M.V & Olson, P.N.S. (2001). *Canine and Feline Theriogenology.* (s.508-522). WB Saunders Co., Philadelphia.

Jordan, H.L, Liang, Y, Hudson, L.C, Tompkins, W.A. (1999). Shedding of feline immunodeficiency virus in semen of domestic cats during acute infection. *Am J Vet Res. 60*, 211-215.

Kaya, M., & Daşkın, A. (1997). Reproduction of the domestic cat and bitechnology. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*. *37*(2), 109-120.

Kustritz, M.V.R. (2010). *Clinical Canine and Feline Reproduction.* USA: Wiley-Blackwell, Iowa.

Kustritz, M.V.R. (2014). Applied small animal andrology. *Animal andrology: theories and applications* içinde (s.177-196). UK: Wallingford CABI.

Martin, W.D., Fletcher, T.F., & Bradley, W.E. (1974). Perineal musculature in the cat. *The Anatomical Record. 180*(1), 3-13.

Mphaphathi, M.L., Thema, M.A., Ledwaba, M.R., Sebopela, M.D., & Mashilo, T.L. (2024). *Perspective Chapter: Wild and Domestic Cats Semen Cryopreservation–Main Aspects and Perspectives.*

Odabaşıoğlu, F, Ateş, C.T. (2000). *Van Kedisi.* Konya: 1. Baskı Selçuk Üniversitesi Basımevi.

Pineda, M.H, Dooley, M.P, Martin, P.A. (1984). Long term study on the effects of electroejaculation on seminal characteristics of the domestic cat. *AM J Vet Res. 45*, 1038-1040.

Pineda, M.H, Dooley, M.P. (1984). Effect of voltage and order of voltage application on seminal characteristics of electroejaculates of the domestic cat. *Am J Vet Res 45,* 1520-1525.

Platz, C.C, Seager, S.W.J. (1978). Semen Collection by Electroejaculation in The Domestic Cat. *JAVMA. 173*, 1353-1355.

Platz, C.C, Wildt, D.E, Seager, S.W.J. (1978). Pregnancy in The Domestic Cat After Artificial Insemination With Previously Frozen Spermatozoa. *J Reprod Fertil. 52,* 279-282.

Pope, C.E, Turner, J.L, Quatman, S.P, Dresser, B.L. (1991). Semen storage in the domestic felid: a comparison of cryopreservation methods and storage temperature. *Biology of Reproduction 44***,** (1), 117.

Pope, C.E., 2000. Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. *Theriogenology. 53*, 163-174.

Rijsselaere, T., & Van Soom, A. (2012). Semen collection, assessment and artificial insemination in the cat. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. *79*(6), 467-470.

Root, M.V, Johnston, S.D, Johnston, G.R. & Olson, P.N. (1996). The effect of prepuberal and postpuberal gonadectomy on penile extrusion and urethral diameter in the domestic cat. *Vet Radiol Ultrasound. 37*, 363-366.

Scott, M.G. & Scott, P.P. (1957). Postnatal development of the testis and epididymis in the cat. *J Physiol. 136*: 40-41.

Siemieniuch, M., & Dubiel, A. (2007). Preservation of tomcat (Felis catus) semen in variable temperatures. *Animal reproduction science*. *99*(1-2), 135-144.

Sojka, N.J. (1980). The male reproductive system. Morrow DA (Ed). *Current Therapy in Theriogenology* içinde (s.844-845). Philadelphia: WB Saunders.

Sojka, N.J. (1986). Management of artificial breeding in cats. Morrow DA. (Ed.) *Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in large and small animals* içinde. 2nd (s.805–808). Philadelphia: WB Saunders.

Sojka, N.J., Jemings, L.L., Hamner, C.E. (1970). Artificial insemination in the cat (Felis catus). *Laboratory Animal Care. 20*, 198-204.

Tanaka, A, Kuwabara, S, Takagi, Y, Nakagawa, K, Fujimoto, Y, Murai, M, Tsutsui, T. (2000). Effect of Ejaculation Intervals on Semen Quality in Cats. *J Vet Sci. 62*(11), 1157-1161.

Tekin, N. (1994). Spermanın muayenesi ve değerlendirilmesi. *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tohumlama, Doğum ve İnfertilite* içinde. Birinci Baskı. (s.69-79). Konya: Dizgievi.

Tırpan, M.B. (2023a). Androloji laboratuvarında spermanın muayenesi. Soylu M.K. (Ed.) *Hayvanlarda reprodüksiyon, androloji ve yardımcı üreme teknikleri. 1. Baskı* içinde (s.147-148). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.

Tırpan, M.B. (2023b). Androloji laboratuvarında spermanın muayenesi. Soylu M.K. (Ed.) *Hayvanlarda reprodüksiyon, androloji ve yardımcı üreme teknikleri. 1. Baskı* içinde (s.152-158). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.

Tsutsui. T, Onodera. F, Oba. H, Mizutani. T. & Hori, T. (2009). Plasma Hormone Levels and Semen Quality in Male Cats during Non-Breeding and Breeding Seasons. *Reprod Dom Anim. 44* (2), 291-293. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01449.x

Uslu B.A. (2023). Androlojik Muayeneler. Soylu M.K. (Ed.). *Hayvanlarda reprodüksiyon, androloji ve yardımcı üreme teknikleri. 1. Baskı* içinde (s.660-661). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri.

Wildt, D.E., Howard, J.G., Hall, L.L., Bush, M. (1986). Reproductive physiology of the clouded leopard. I. Electroejaculates contain high proportions of pleiomorphic spermatozoa throughout the year. *Biol. Reprod. 34,* 937-947.

Yavaş, İ. (2018). Kedi Spermasının Saklanması. *Turkiye Klinikleri Reproduction and Artificial Insemination-Special Topics*, *4* (2), 32-39.

Zambelli, D, Baietti, B, Prati, F, Belluzzi, S. (2004). The effect of ketamine and medetomidine on quality of domestic cat sperm after electroejaculation. *EVSSAR IV European Congress on Reproduction in Companion*, *Exotic and Laboratory Animals, June 4-6*. s.311-312.

Zambelli, D, Cunto, M. (2006). Semen collection in cats: techniques and analysis. *Theriogenology. 66* (2), 159-165.