

## Köpeklerde Fertilitenin Değerlendirilmesinde Seminal Plazma İçeriğinin Önemi

Ülgen GÜNAY\*

Geliş Tarihi: 25.02.2003

Kabul Tarihi: 10.04.2003

**Özet:** Erkek hayvanlarda fertilitenin değerlendirilmesinde ve reproduktif hastalıkların tanısında seminal plazmanın biyokimyasal değerlendirilmesi önemli bir kriterdir. Seminal plazmanın biyokimyasal bileşiminde anormallik olması, erkek köpeklerdeki infertilite problemini anlamak için seminal plazma içeriği üzerindeki çalışmalara daha fazla yoğunlaşılması gerektiğini göstermektedir. Seminal plazmada kalsiyum, magnezyum gibi iz elementlerin anormal düzeyleri spermatozoa üretimini, olgunlaşmasını, motilitesini, fertilizasyon kapasitesini ve spermatogenezisi etkilemektedir. Sonuç olarak, bu derlemede erkek köpeklerde infertilite problemlerinin saptanmasında seminal plazma içeriğinin de araştırılması gerekliliği üzerinde durulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Erkek köpek, sperma, seminal plazma, biyokimyasal parametreler.

### The Importance Of The Constituents Of Seminal Plasma In Assessing Fertility In Dogs

**Summary:** Biochemical evaluation of seminal plasma is an important criteria in assessing fertility levels and for diagnosing male reproductive disorders. The idea that abnormal biochemical composition of seminal plasma might be used to determine infertility problems in male dogs draws more interest to the research about the constituents of seminal plasma. Abnormal levels of trace elements such as calcium and magnesium in seminal plasma may affect spermatogenesis with regard to production, maturation, motility and fertilizing capacity of spermatozoa. In conclusion, this review indicate that the investigation of constituents of seminal plasma should be required to detect the infertility problems in male dogs.

**Key Words:** Male dog, semen, seminal plasma, biochemical parameters.

### Giriş

Köpek sperması ayrılması her zaman kolay olmayan üç fraksiyondan oluşur<sup>10,15,21,29</sup>. Birinci ve üçüncü fraksiyonlar prostatik<sup>9,20</sup>, ikinci fraksiyon ise testisten<sup>20</sup> gelmekte olup epididimal kökenlidir. Erkek köpek spermasının fertilizasyon kapasitesinin önceden belirlenmesinde spermatozoadan zengin olan ikinci fraksiyonun toplanması ve spermatolojik özelliklerinin değerlendirilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Köpeklerde fertilitenin değerlendirme metodları arasında reproduktif performans, fiziksel muayene, spermatozoon motilitesi, konsantrasyonu ve morfolo-

jik muayenesi sayılmaktadır. Yalnızca belirtilen özellikler fertilitenin ortaya konmasında yeterli olamamaktadır. Spermanın biyokimyasal olarak değerlendirilmesi de büyük önem taşımaktadır<sup>5,12,13</sup>. Araştırmacılar<sup>18,25</sup> bu metodların fertilitenin belirlenmesinde yararlı olduğunu ancak infertilite çeşidinin ayırt edilmesinde yeterli olmadığını vurgulamışlardır. Çok sayıda araştırmacı<sup>7,18,20,25,33</sup> karnitin, alkalen fosfataz (ALP), kanin prostat-spesifik arjinin esteraz (CPE) gibi seminal göstergeçlerin ölçümünün infertilite çeşidinin belirlenmesinde yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Seminal plazmanın bileşimi sperma alma şekline, sıklığına, mevsime, beslenmeye ve türle-

\* Yard.Doç.Dr.; U.Ü., Veteriner Fak., Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa.

re göre farklılık gösterir<sup>3,10</sup>. Bileşiminde organik madde konsantrasyonu yüksektir ve içeriğindeki madde miktarları eklenti üreme bezlerinin fonksiyonel durumunu ve epididimisteki değişiklikleri yansıtır<sup>3</sup>. Ayrıca memelilerde seminal plazma içeriğindeki elektrolit (sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor) lipit ve protein düzeyleri değişkenlik gösterir<sup>12,27</sup>.

Araştırmacılar seminal plazmadaki kalsiyum, magnezyum, çinko gibi iz elementlerin anormal seviyelerinin spermatozoanın üretimini, olgunlaşmasını, motilitesini, fertilizasyon kapasitesini ve spermatogenezisi etkilediğini belirtmişlerdir<sup>22-24,31</sup>. Comhaire ve ark.<sup>5</sup>, seminal plazmanın fiziksel ve biyokimyasal kompozisyonundaki anomalilerin infertiliteyi işaret edebileceğini vurgulamışlardır. Sperma kalitesinde magnezyumun kesin rolünün açıklanamadığını belirten Wong ve ark.<sup>32</sup>, bu iyonunun glikolizis, protein sentezi, solunum ve reproduksiyon gibi fonksiyonlarda etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Köpek spermasında fruktoz yok denecek kadar azdır ve bu durum V. seminalis'ten yoksun olmalarından kaynaklanmaktadır. Köpeklerde tek eklenti bezi prostat olup prostatik salgı yüksek oranda sodyum ve klor içerir<sup>3,6</sup>. Ancak köpeklerin seminal plazmasında sodyum konsantrasyonunun potasyumdan çok yüksek olduğu belirtilmiştir<sup>1,7</sup>.

Köpek prostatından salgılanan proteinler diğer memelilerden farklıdır<sup>8</sup>. Örneğin köpeklerdeki asit fosfataz enzimi insan enzimine biyokimyasal yapı olarak oldukça benzer olmasına karşın hem seminal plazma hem de prostatik dokulardaki konsantrasyonu insandakinden yaklaşık 100 kat daha azdır<sup>8</sup>. Bunun yanı sıra serumdaki ve seminal plazmadaki asit fosfatazın sağlıklı ve prostatik hastalığı olan köpekler arasında büyük ölçüde farklılık göstermediği ifade edilmiştir<sup>2</sup>.

Köpek prostatik salgısının bir göstergesi olarak bilinen arjinin esteraz enzimi insan prostatik salgısında olmamasına karşın köpeklerde salgılanan toplam proteinin %90'ından daha fazlasını oluşturmaktadır<sup>8</sup>. Arjinin esteraz köpek prostatından büyük oranlarda salgılanmakta olup testosteron hormonunun kontrolü altındadır<sup>19</sup>. Bununla beraber bu enzimin köpeklerde prostat hastalıklarındaki rolü açıklanamamıştır<sup>16</sup>. Mollo ve ark.<sup>23</sup>, ise gelecekteki araştırmalarda köpeklerdeki arjinin esterazın nonneoplastik prostatik hastalıklardaki kesin rolünün aydınlatılması gerektiği üzerinde durmuşlardır.

Köpek seminal plazmasında karnitin ana kaynağının epididimis olduğu düşünülmekte diğer pek çok türde de epididimiste yüksek oranda bulunmaktadır<sup>26</sup>. Olson ve ark.<sup>26</sup>, köpeklerde tam bir ejakulasyondan sonra süpernatanttaki karnitin konsantrasyonunun 100 nmol/ml'dan düşük düzeyde olmasının büyük olasılıkla testis kanallarında bilateral bir blokajın şekillendiğinin işareti olacağını bildirmiştir. Aynı araştırmacılar köpeklerde seminal plazmadaki ortalama karnitin konsantrasyonunu sağlıklı, vazektomize ve kastre edilen olmak üzere sırasıyla; 946±345 nmol/ml, 49±9 nmol/ml ve 14±5 nmol/ml olarak saptamışlardır.

Köpeklerde azospermi ve oligospermi olguları, tamamlanmamış ejakulasyon, spermatogenez hata, testis kanal sisteminin blokajı ve kongenital aplazisi, epididimisin adenokarsinomu, epididimitis ve travma gibi pek çok testiküler, obstruktif ve fonksiyonel nedenlerden kaynaklanabilir<sup>4,25</sup>. Bu nedenle araştırmacılar<sup>21,25,28</sup> tarafından karnitin ve alkalen fosfataz düzeylerinin azospermi ve oligospermi olgularının tanısında çok yararlı metotlar olduğu vurgulanmıştır. Özellikle insanlarda yapılan bir araştırmada seminal plazmadaki karnitin düzeyi ile spermatozoanın motilitesi ve olgunlaşması arasında bağlantı kurulmuş ve düşük karnitin düzeyinin obstruktif azospermia'nın tanısının göstergesi olduğu bildirilmiştir<sup>32</sup>.

Köpeklerde sperma fraksiyonlarının biyokimyasal özelliklerini ortaya koyan fazla sayıda kaynağa rastlanamamıştır. Ejakulatin üç fraksiyonunu biyokimyasal olarak inceleyen England ve ark.<sup>9</sup>, toplam protein, kalsiyum, magnezyum, fosfor, kreatinin, sodyum ve potasyum değerlerini birinci, ikinci ve üçüncü fraksiyonda sırasıyla 14.4 g litre<sup>-1</sup>, 0.31 mmol litre<sup>-1</sup>, 0.85 mmol litre<sup>-1</sup>, 1.14 mmol litre<sup>-1</sup>, 468 µmol litre<sup>-1</sup>, 146 mmol litre<sup>-1</sup>, 7.57 mmol litre<sup>-1</sup>; 42.5 g litre<sup>-1</sup>, 0.46 mmol litre<sup>-1</sup>, 1.12 mmol litre<sup>-1</sup>, 1.34 mmol litre<sup>-1</sup>, 145 µmol litre<sup>-1</sup>, 145 mmol litre<sup>-1</sup>, 10.78 mmol litre<sup>-1</sup>; 30.7 g litre<sup>-1</sup>, 0.31 mmol litre<sup>-1</sup>, 0.84 mmol litre<sup>-1</sup>, 0.31 mmol litre<sup>-1</sup>, 103 µmol litre<sup>-1</sup>, 143 mmol litre<sup>-1</sup>, 10.27 mmol litre<sup>-1</sup> olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar 6 saat arayla spermanın tüm fraksiyonlarını toplamışlar ve fraksiyonlar arasında sodyum, magnezyum ve kalsiyum konsantrasyonları arasında önemli bir farklılık saptamamışlardır. Aynı araştırmada toplam protein konsantrasyonu ise ikinci fraksiyonda birinci fraksiyondan belirgin bir şekilde yüksek bulunmuş ve bu değerdeki değişikliğin ikinci ve üçüncü fraksiyonların içerdiği epididimal salgıdan kaynaklan-

bileceği, ayrıca birinci fraksiyondaki yüksek kreatinin konsantrasyonunun ise idrar kontaminasyonundan kaynaklanabileceği ifade edilmiştir

Köpeklerde toplam protein, kalsiyum ve magnezyum değerlerini Brooks<sup>3</sup> tüm ejakulatta sırasıyla 30 mg/ml, 0,85 mmol/l ve 1.1 mmol/l olarak belirtilmiştir. Christiansen<sup>4</sup>, ise sodyum, potasyum, magnezyum ve kalsiyum değerlerini sırasıyla birinci fraksiyondan elde ettiği seminal plazma örneklerinde 145±6 mEq/l, 14.6±2.1 mEq/l, 0.62±0.20 mEq/l, 0.63±0.37 mEq/l; ikinci fraksiyonda 122±1.8 mEq/l, 12,9 ± 1.8 mEq/l, 0,46 ± 0,26 mEq/l ve 0,37 ± 0,07 mEq/l ve üçüncü fraksiyonda ise 156±11 mEq/l, 7.0±3.2 mEq/l, 0.17±0.09 mEq/l, 0.24±0.07 mEq/l olarak bildirmiştir. Günay ve ark.<sup>16</sup>, ejakulatin ikinci fraksiyonuna ait seminal plazma örneklerinde toplam protein, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum ve ALP değerlerini sırasıyla; 39.1±7.7 g/l, 0.87±0.066 mEq/l, 0.96±0.23 mEq/l, 1.85±0.31 mEq/l, 142.52±9.62 mEq/l, 12.90±1.78 mEq/l ve 4189±526.2 U/l olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Vasektomize edildikten sonra köpeklerde biyokimyasal özelliklerin değiştiği belirtilmiş, özellikle de kalsiyum içeriğinin testiküler sıvının ve spermatozoanın yokluğuna bağlı olarak önemli ölçüde düştüğü, laktik asit düzeyinin arttığı ve bu artışın da spermatozoanın olmamasına bağlı olarak laktik asidin kullanılmamasından dolayı şekillendiği açıklanmıştır<sup>4</sup>. İnsanlarda yapılan bir araştırmada<sup>17</sup> ise vasektomize edilmiş ve edilmemiş gruplar arasında toplam protein konsantrasyonları arasında az da olsa farklılık saptanmış ve bu değerlerin sırasıyla 37,90±56,06 µg/l ve 39,89±10,94 µg/l olarak bulunduğu bildirilmiştir

Çok sayıda araştırmada<sup>11,13,14,18,20,23,26</sup>, seminal plazmanın biyokimyasal içeriği ile spermatozoa özellikleri arasında önemli korelasyonlar bulunduğu bildirilmiştir. Seminal plazmanın içeriğindeki madde konsantrasyonları ile spermatozoa özellikleri arasında bağlantı kuran kimi araştırmacılar<sup>11,14,16</sup> ise motilite ile sodyum konsantrasyonu arasında pozitif, potasyum ile de negatif bir korelasyon olduğunu ifade etmişlerdir.

Köpek seminal plazmasındaki ALP aktivitesi epididimiste çok yüksek, testis ve prostatta daha düşük oranlarda bulunmaktadır. Köpek seminal plazmasındaki ALP'nin büyük bir bölümünün prostattan değil epididimisten geldiği bildirilmiştir<sup>11,20</sup>. Seminal plazmadaki ALP oranının serumda ölçülen metotla ölçülmekte olduğu

belirtilmiş ve fertil köpeklerdeki düzeyinin 5000-40.000 IU/l arasında değiştiği, spermanın ikinci fraksiyonundaki ALP düzeyinin ise ≤ 5000 IU/l olduğu bildirilmiştir<sup>18</sup>. Araştırmacılar<sup>13,18,20</sup> ALP düzeyinin seminal plazmada bu değerden daha düşük bulunması durumunda ya ikinci fraksiyonun tam toplanamamış veya hiç toplanamamış olduğunu ya da epididimis veya vasa deferenste bilateral bir obstruksiyon şekillendiğini ifade etmişlerdir. ALP düzeyinin belirtilen bu değerden çok yüksek bulunmasının ya ikinci fraksiyonda hiç spermatozoa olmadığını, ya gonadal disfonksiyonu ya da epididimisin proksimalinde bilateral tıkanma şekillendiğinin kanıtı olacağını vurgulamıştır<sup>25</sup>.

Mollo ve ark.<sup>23</sup> yaptıkları bir araştırmada seminal plazmadaki ALP düzeyi ile spermatozoa konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon bulduklarını ve bu enzimin spermatozoa olgunlaşmasının bazı basamakları ile doğrudan ilgili olabileceğini vurgulamışlardır. Aynı pozitif korelasyon insanlarda yapılan bir araştırmada da<sup>30</sup> saptanmıştır. Günay ve ark.<sup>16</sup>, Alman Çoban köpeklerinden topladıkları ikinci fraksiyondan elde ettikleri seminal plazma örneklerinde ortalama ALP düzeyini 4189±526.1 IU/l olarak saptamışlar ve ALP düzeyi ile spermatozoa konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon bulduklarını belirtmişlerdir. Ayrıca aynı araştırmacılar motilite ile sodyum konsantrasyonu arasında da pozitif korelasyon saptamışlardır.

Sonuç olarak, sunulan derlemede köpeklerde spermatozoa bulgularının incelenmesinin yanı sıra seminal plazma içeriğinin ortaya konmasının fertilitenin olumlu yönde değerlendirilmesinde önemli bir kriter olabileceği ve erkek köpeklerde infertilitenin saptanmasında seminal plazma içeriğinin de araştırılması gerekliliği vurgulanmak istenmiştir. Bunun yanı sıra seminal plazma içeriğindeki madde düzeylerinin ile spermatozoa değerleri arasındaki korelasyonların ortaya konmasının sperma kalitesinin belirlenmesinde ve fertilitenin değerlendirilmesinde yardımcı ve destek bir teknik olabileceği düşünülmektedir.

## Kaynaklar

1. AYDIN S, YILMAZ Y, ODABAŞI Ö, ŞEKEROĞLU R, TARAKÇIOĞLU M, ATILLA MK. A further study of seminal plasma: Lactate dehydrogenase and lactate dehydrogenase-x activities and diluted semen absorbances. Eur. J. Chem. Clin. Biochem. 1997; 35(4):261-264.

2. BELL FW, KLAUSNER JS, HAYDEN DW, LUND EM, LIEBENSTEIN BB, FEENEY DA. Evaluation of serum and seminal plasma markers in the diagnosis of canine prostatic disorders. *J.Vet. Intern. Med.* 1995; 9: 149-153.
3. BROOKS DE. Biochemistry of the male accessory glands. In: LAMMING, G E. ed, *Marshall's Physiology of Reproduction*. 4<sup>th</sup> ed. Churchill Livingstone. 569-690,1990.
4. CHRISTIANSEN IbJ. *Reproduction in The Dog and Cat*, 1<sup>st</sup> ed., Bailliere Tindall,; 81-103,1984.
5. COMHAIRE FH, DEKRESTER D, FARLEY TMM, ROVE PJ. Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int. J. Androl.* 1987; 5:5-8
6. CONCANNON WP. *Reproduction in Dog and Cat*. In: CUPPS P, ed. *Reproduction in Domestic Animals*, 4<sup>th</sup> ed. London: Academic Press. 518-550, 1991.
7. CORROZA M, GUIDI G, ROMAGNOLI S, TOGNETTI R, BUONACCORSI A. Serum total prostatic and non-prostatic acid phosphatase in healthy dogs and in dogs with prostatic diseases. *J.Small Anim. Prac.* 1994; 35: 307-310.
8. DUBE JY, FRENETTE G, CHAPDELAINE P, RAQUIN R, TREMBLAY RR. Biochemical characteristics of the proteins secreted by dog prostate. *Exp. Biol* 1985; 43: 149-159.
9. ENGLAND GCW, ALLEN WE, MIDDLETON DJ. An investigation of into the origin of the first of the canine canine ejaculate. *Research in Veterinary Science* 1990, 49 (1): 66-70.
10. ENGLAND GCW, ALLEN WE. The lack of effect of parvovirus vaccination on the seminal characteristics of dogs. *Vet. Res.* 1991; 128: 611-612.
11. FRENETTE G, DUBE JY, TREMBLAY RR. Origin of alkaline phosphatase of canine seminal plasma. *Archives of Andrology* 1986; 16: 235-241.
12. GARNER DL, HAFEZ ESE. Spermatozoa and seminal plasma. In: HAFEZ ESE, ed. *Reproduction in Farm Animals*. 6<sup>th</sup>ed. Lea & Febiger, 165-187,1993.
13. GOBELLO C, CASTEX G, CORRADA Y. Serum and seminal markers in the diagnosis of disorders of the genital tract of the dog: a mini review. *Theriogenology* 2002; 57:1285-1291.
14. GUSANI PH, SKANDHAN KP, VALSA C, MENTA YD. Sodium and potassium in normal and pathological seminal plasma. *Acta Eur. Fertil.* 1992; 23 (1): 39-42.
15. GÜNAY Ü. Farklı sulandırıcılarla sulandırılıp dondurulan köpek spermasının spermatolojik özellikleri, *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1999; 3 (18), 149-166.
16. GÜNAY Ü, POLAT Ü, GÜNEŞ N., SOYLU MK., KIL F. The effects of short-interval ejaculation on semen quality and some biochemical parameters in dogs, *Revue Med. Vet.*, 2003 (Baskıda).
17. JIMENEZ VERDEJO A, CARILLO DE ALBORNOZ EO, LUNA MALDONADO. A, JIME VERDEJO J, ZULUAGA GOMEZ A. Comparative study of determined biochemical parameters in vasectomized and non-vasectomized subjects. *Arch. Esp. 20. Urol.* 1998; 51 (8): 811-817.
18. JOHNSTON SD. Performing a complete canine semen evaluation in a small animal hospital. *Canine Reproduction* 1991; 21: 545-550.
19. JUNIEWICZ PE, BARBOLT TA, EGY MA, FRENETTE G, DUBE JY, TREMBLAY RR. Effects of androgen and antiandrogen treatment on canine prostatic arginine esterase. *Prostate* 1990; 17: 101-111.
20. LINDE FORSBERG C. Artificial insemination with fresh, chilled entented and frozen-thawed semen in the dog. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)* 1995; 10 (1): 48-58.
21. LINDE-FORSBERG C. Artificial insemination in the dog. *W.S.A.V.A. XIX<sup>th</sup> World Congress*, Durban, 606-611,1994.
22. Mc DONALD LE. Veterinary endocrinology and reproduction. In: M.H. PINEDA, ed. *Male reproduction*, Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1989, 261-302.
23. MOLLO A, BOSISIO P, AVEZZA F, LUVONI CG. Concentrazione della fosfatazi alkaline nel plasma seminale del cani. *Atti Societa Italiana delle Science Veterinarie* 1997; LI, 171-172
24. OETTLE EE. Sperm morhphology and fertility in the dog. *J. Reprod. Fertil* 1993; 47:257-260.
25. OLSON PN: Exfoliative cytology of the canine reproductive tract. *Theriogenology* 1989; 274.
26. OLSON PN, BEHRENDT MD, AMANN RP, WEISS, DE, BOWEN RA, NETT TM, McGARRY JD. Concentration of carnitine in the seminal fluid normospermic, vasectomized, and castrated dogs. *Am. J. Vet. Res.* 1987; 48(8): 1211-1215.
27. REECE WO. *Physiology of Domestic Animals*, Lea & Febiger, 266-285, 1991.
28. ROSSI T, MAZZILI F, SARANREA N, RAPONE S, DONDERO F. The application of the differential pH method to the biochemical evaluation of seminal plasma. *Clinical Biochemistry* 1997; 30(2): 143-148.
29. SCHUBERT CL, SEAGER, SWJ. Semen collection and evaluation for the assesment of fertility parameters in the male Dalmatian. *Canine Practice* 1991; 16: 17-21.

30. SINGER R, BARNET M, ALLALOUF D, SCHARTZMAN S, SAGIV M, LANDAU B, SEGENREICH E, SERVADIO C. Some properties of acid and alkaline phosphatase in seminal fluid and isolated sperm. *Arch. Androl.* 1980; 5: 195-199.
31. SKANDHAN K.P. Review on copper in male reproduction and contraception. *Rev. Fr. Gynecol. Obstet. (Review)* 1992, 87: 594-598.
32. WONG YEE W, FLIK G, GROENEN PASCAL MW, SWINKELS DORINE W, THOMAS CHRIS MG, COPIUS-PEEREBOOM JENNY HJ, MERKUS HANS MWM, STEEGERS-THEUNISSEN REGINE PM. The impact calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reproductive Toxicology* 2001;15: 131-136.
33. YI Q, KUIWU D, YANG SURNEI W, QI Z, ZHIXIN W, ZHENJIA H, MINGZHANG S. The change of carnitine content in seminal plasma after reversible injection of va deferens. *Contraception* 1995; 51: 261-263.