



TIBBİ DENEYSEL UYGULAMA VE  
ARAŞTIRMA MERKEZİ  
Medical Experimental Application and  
Research Center

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ / ATATÜRK UNIVERSITY  
LABORATUVAR HAYVANLARI BİLİMİ VE UYGULAMALARI DERGİSİ  
JOURNAL OF LABORATORY ANIMAL SCIENCE AND PRACTICES

## Ratlarda Kullanılan Sperma Alma ve Analiz Yöntemleri ile Referans Değerleri

Emrah Hicazi AKSU<sup>1a</sup>✉

1. Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD Kastamonu, Türkiye.

ORCID: 0000-0003-1591-684X<sup>a</sup>

Geliş Tarihi/Received	Kabul Tarihi/Accepted	Yayın Tarihi/Published
12.08.2021	20.03.2022	28.03.2022

**Bu makaleye atıfta bulunmak için/To cite this article:**

**Aksu E.H:** Ratlarda Kullanılan Sperma Alma ve Analiz Yöntemleri ile Referans Değerleri. Lab Hayv Bil & Uyg Derg, 2(1): 63-71, 2022.

**Öz:** Erkek infertilitesi dünya çapındaki çiftlerin yaklaşık %15'ini etkilemektedir ki bu da yaklaşık 48.5 milyon çifte tekabül etmektedir. Erkek kökenli infertilite problemi çiftlerin bu konudaki problemlerinin %50 kadarına etki etmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar kullanılan bazı ilaçlar, beslenme biçimi, çeşitli metabolizma hastalıkları, çevresel etkenler (çevresel stres, ısı, radyasyon vb.) ve zararlı alışkanlıklar (alkol ve sigara tüketimi vb.) gibi etkenler spermatogenezisi etkilediğini ortaya koymaktadır. Bilim insanları bu etkenlerin erkek üremesi ve spermatolojik parametreleri üzerine etkilerini incelemek ve olası tedaviler geliştirmek amacıyla çeşitli konularda bilimsel çalışmalar yapmaktadır. Bu çalışmalarda laboratuvar hayvanı modelleri kullanılmaktadır. Laboratuvar hayvanları içerisinde ise en çok kullanılan hayvan türlerinden biri de ratlardır. Yapılan bilimsel çalışmalarda ratlarda spermatolojik parametrelerin değerlendirilmesi amacıyla çeşitli araştırmacılar farklı değerlendirme yöntemlerini kullanmaktadır. Rat modelleri ile yapılacak olan çalışmalarda bu yöntem ve değerlerin bilinmesi oldukça büyük önem arz etmektedir. Bu derlemede çeşitli yayınlardaki kullanılmış olan ratlardan sperma elde edilme yöntemleri, rutin sperma parametrelerinin ölçümü için kullanılan sperma değerlendirme yöntemleri ve kontrol grubunda bulunan ratların rutin spermatolojik parametrelerinin (motilite, ölü/canlı oranı, sperm yoğunluğu ve anormal sperm oranı) ortama değerleri hakkında veriler derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Dölverimi, Rat, Referans Değerler, Sperma Parametreleri.

## Semen Collection and Analysis Methods and Reference Values Used in Rats

**Abstract:** Male infertility affects approximately 15% of couples worldwide, which corresponds to approximately 48.5 million couples. Male-origin infertility problem affects up to 50% of couples' problems in this regard. Factors such as some drugs used, diet, various metabolic diseases, environmental factors (environmental stress, heat, radiation, etc.), and harmful habits (alcohol and cigarette consumption, etc.) affect spermatogenesis. Scientists conduct scientific studies on various subjects to examine the effects of these factors on male reproduction and spermatological parameters and to develop possible treatments. Laboratory animal models are used in these studies. One of the most used animal species among laboratory animals is rats. Various researchers use different evaluation methods in order to evaluate spermatological parameters in rats in scientific studies. It is very important to know these methods and values in studies with rat models. In this review, data on the methods of obtaining semen from rats used in various publications, routine semen evaluation methods for the measurement methods, and the mean values of semen parameters (motility, dead/live ratio, sperm density, and abnormal sperm ratio) of the rats in the control groups were compiled.

**Keywords:** Fertility, Rat, Reference Values, Sperm Parameters.

✉ Emrah Hicazi AKSU

Kastamonu Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD Kastamonu, Türkiye.  
e-posta: emrahaksu@kastamonu.edu.tr

## GİRİŞ

**D**öl verimi düşüklüğü (infertilite) tahminen çiftlerin % 15 kadarını etkilemektedir ki bu da 48,5 milyon çiftte tekabül etmektedir. Erkeklerin ise döl verimi düşüklüğü vakalarında %20-30 arasında tek başına sorumlu olduğu ve tüm kısırılık vakalarında yaklaşık %50'lik bir paya sahibi olduğu düşünülmektedir (Agarwal ve ark., 2015). Sperm parametreleri kişisel sağlık etkenleri hastalıklar, diyet, egzersiz, obezite ve fizyolojik stres gibi sağlık etkenleri, alkol, sigara kullanım alışkanlıkları, kullanılan çeşitli ilaçlar, elektromanyetik radyasyon, çevre kirliliği, ısı gibi çevresel etkenler tarafından etkilenmektedir (Doğantekin ve Özcan, 2016). Spermatogenezisi etkileyen pek çok etken doğrudan fertilitate oranını da etkilemektedir. Bu amaçla çeşitli bilimsel çalışma modelleri oluşturularak diyabet, beslenme, egzersiz, çeşitli hastalıklar, çevresel etkenler ve ilaçların erkek üreme sistemi ve sperma değerleri üzerine olumlu-olumsuz etkileri ve olası tedavi yöntemleri hakkında çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışma yöntemlerinden en yaygın kullanılanları ise laboratuvar hayvanları modelleridir (Havenaar ve ark., 2003).

Konuyla ilgili deneysel çalışmalarda ratların kullanımı da oldukça yaygındır. Ratların teminini kolay ve ucuz olması ve aynı zamanda deneyler sırasında çevresel faktörlerin oluşturabileceği varyasyonların önlenmesi açısından barınma ve beslenme şartlarının standartlaştırılmasının kolay olması ve olası bir durumda deneyin kısa sürede tekrarlanabilmesine olanak sağlıyor olmasından dolayı bilimsel çalışmalarda en sık kullanılan hayvan türlerinden biridir (Havenaar ve ark., 2003; Sarıözkan, 2018).

Bu derlemede sperma alma yöntemleri, rutin sperma parametrelerinin belirlenmesi ve yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda kontrol gruplarında elde edilen spermatolojik parametreler hakkında bilgiler derlenmiştir.

## 1. Rat Spermaları Elde Etme Yöntemleri

### 1.1. Cauda epididisten sperma elde etme

Ratlarda sperma elde etmek amacıyla cauda epididimisin testisten ayrılarak çeşitli sulandırıcılar serum fizyolojik, Hams-10 solüsyonu, Hank's solüsyonu %1'lik siğir albümini içeren solüsyon, PBS vb solüsyonlar içeren petri kabına trimlenir (ince ince kesilerek). Kap içerisinde 0.5-15 dakika arasında bir süre kadar spermatozoonların sıvıya geçmesi için inkübe 37 °C'de edilerek spermatozoonların solüsyona geçmesine izin verilir. Elde edilen sıvı sperma örneği olarak kabul edilir (Aksu ve ark., 2016abc, Türk ve ark., 2008; Sönmez ve ark., 2006; Bastaki et al., 2019; Aghaie ve ark., 2016; Selvakumar ve ark., 2006)

Ratlardan sperma örneği elde etmek amacıyla kullanılan bir diğer yol ise cauda epididimisin özel iğneler ile inspirasyonu ile elde edilir. Bu yöntem kısaca şöyledir, cauda epididimisi 26 ve 30 gauge iğnelerle tekrar tekrar delinir, fosfat tamponlu salin (PBS) içeren mikro santrifüj tüplerine yerleştirilir ve sperm salınımına izin vermek için 37 °C'de 10 dakika su banyosunda inkübe edilir. Epididimal doku ve döküntü, 3 dakika süreyle 300 x g'de santrifüj ile çöktülür ve süpernatant çıkarılır ve spermi pelletlemek için 5 dakika süreyle 2000 x g'de santrifüjlenir (Dere ve ark., 2018)

### 1.2. Elektroejakülatörle sperma alınması

Elektriksel uyarımlar ile sperma almak ilk kez 1959 yılında tanımlanmış bir tekniktir. Hafif bir anestezi altında ratlardan elektroejakülatörle sperma alma işlemi kolaylıkla sağlanabilmektedir. Bu amaçla anesteziye olan ve dorsal pozisyonda yatırılan ratlardan elektroejakülatörle sperma alınabilmektedir. Öncelikle ratın rektumundaki dışkıyı dışarıya alınması gereklidir. Dışkı mevcudiyeti probun iletkenliğini zayıflatarak ejakülasyonu zayıflatabilir. Rektumdan içeri sokulan elektroejakülatörün probu vasıtasıyla 2-4 sn süreler ile 2 V düzeyinde uyarım verilir kapatılması suretiyle

3 kez ya da penis ereksiyonu gerçekleşene kadar uyarıma devam edilir. Bazı ratlarda prepusyal derinin başa doğru çekilerek penisin dışarı çıkması sağlanmalıdır. Elektroejakulatörün voltajı maksimum 10 Volta kadar çıkarılabilir ve bu voltajda sperma alımı sağlanıncaya kadar devam edilebilmektedir. Sperma ürogenital delikte temiz bir damla şeklinde görülebilmektedir. Prepusyum el yardımıyla geriye doğru çekilirken elde edilen sperma 1 ml'lik enjektör yardımı ile alınıp, 1,5 ml'lik mikrofuj tüpüne aktarılır ve muayene edilebilir (Sarıözkan, 2018).

### 1.3. Çiftleşmeden sonra uterustan sperma örneği toplama

Erkek ve dişi ratlar bir araya getirilerek çiftleşmesi sağlanır. Erkeğin boşalmasından hemen sonra dişi, boş bir kafese transfer edilir ve burada 5 dakika boyunca sessiz bırakılır ve ardından intraperitoneal olarak 26 mg/kg sodyum pentobarbital ile anestezi uygulanır. Karın insizyonundan sonra, uterus boynuzları diseke edilir ve proksimal ve distal olarak bağlanır, karın boşluğundan çıkarılır ve 37 °C'de fizyolojik tuzlu su içeren bir Petri kabına daldırılır. Yağ ve dış kan damarları dikkatlice diseke edilir ve uterus boynuzları daha sonra Petri kabından çıkarılır ve emici kâğıtla kurutulur. Son olarak, her bir boynuzun ucunda bir kesi yapılır ve her iki uterus boynuzunun seminal içeriği, hafif basınç uygulanarak 1.5 ml'lik bir mikro santrifuj tüpüne alınır. Tüp hemen 37°C'de bir termo banyoya yerleştirilir (Lucio ve ark., 2013).

## 2. Sperma Parametreleri Değerlendirme Yöntemleri

### 2.1. Sperm motilitesinin değerlendirilmesi

Sperm hücrelerinin hareket etme yeteneği olarak tanımlanan bu yöntemde spermatozoonların hareketleri bir uzman tarafından değerlendirilir. Bu yöntemin en önemli dezavantajı muayeneyi yapan kişinin kendi tecrübesine göre karar vermesidir ki burada insana bağlı yanılma payı olabileceği göz önüne alınmalıdır. Ancak objektif değerlendirme yapma imkânı olmayan çalışmalarda bu yöntemin kullanılması gerekir. Sperm hareketliliği yüzdesini değerlendirmek için, ısıtmalı kademe ile donatılmış

ışık mikroskobu kullanılır. Bu yöntemde kısaca, bir lam, geleneksel bir ışık mikroskobu üzerine yerleştirilmiş 35 °C'ye kadar ısıtılmış bir tabla üzerine yerleştirilir. Slayt üzerine yaklaşık 20 µl semen numunesi damlatılır. Sperm hareketliliği yüzdesi, numunenin görsel olarak incelenmesi ile tespit edilir. Sperm hareketliliğini tahmin etmek için her örnekten rastgele seçilen üç farklı alan değerlendirilir. İki ya da üç alan tahmininin ortalaması, örneklemin nihai motilite puanı olarak hesaplanır (Türk ve ark. 2008).

### 2.2. Yoğunluk

Sperma spermatozoon hücreleri ve ek salgı bezleri ve epididimisin salgılarının karışımından oluşan bir süspansiyondur. Sperma yoğunluğu ise 1 ml sperma içerisinde bulunan spermatozoon sayısını ifade etmektedir. Fertilizasyonu etkileyen en önemli spermatolojik parametrelerden biri de sperma yoğunluğudur. Dolayısıyla yapılan çalışmalarda kullanılan ilaç ya da etken maddenin erkek fertilitesi üzerine etkilerini ortaya koymak adına göz önünde bulundurulması gereken parametrelerden birisi de sperma yoğunluğudur. Sperma örneğinin yoğunluğu en yaygın olarak hemositometrik yöntem kullanılarak yapılmaktadır. Bu amaçla eritrositleri saymak amacıyla kullanılan kırmızı boncuklu pipet ile 0,5 veya 1 çizgisine kadar sperma çekilir. Daha sonra 101 çizgisine kadar eosin boyası çekilir. Bu şekilde 1/100 veya 1/200 oranında sulandırılmış olur. Pipetin iki ucundan tutularak 30 cm mesafede 100 kere ileri geri çalkalanır. Pipetin ucundaki ilk 3-5 damla sperma içermediği için atılır. Sayım için hazırlanmış olan Thoma lamı veya Neuber lamına sulandırılmış sperma damlatılarak tam olarak sayım sahasına yayılması sağlanır. Mikroskop altında her iki büyük karenin tamamı sayılır. Elde edilen miktar aşağıdaki formüle göre hesaplanır (Sönmez, 2015).

$$\text{Spermatozoon Yoğunluğu} = \text{Sayılan sperm sayısı} \times \text{sulandırma oranı} \times \text{Thoma Lamı derinliği} (10) \times 0,1 \text{ mm}^3 \text{ ün } 1 \text{ mm}^3 \text{ e değeri} (1000)$$

Hemositometrik yöntem alternatif olarak benzer bir yöntem daha vardır. Kısaca, semen örneği Eppendorf tüpte eozin solüsyonu (2 gr kuru eozin boya ve 3 gr sodyum sitrat 100 ml distile su) ile 1/100 oranında seyreltilir. Eppendorf tüpleri 2500 rpm'de 15 saniye vortekslenir ve sperm süspansiyonu Thoma bölmesinin sayma bölmelerine aktarılır. Daha sonra, her iki bölmedeki sperm hücreleri, geleneksel ışık mikroskobu altında 400 × büyütmede sayılır (Aksu, 2016abc). Sayım sırasında belirli bir yön doğrultusunda sayımlar yapılarak aynı karenin tekrar sayılmasının önüne geçilir. Her iki bölmede sayılan sayıların aritmetik ortalaması alınarak bu ortalama değer yukarıdaki formülde kullanılarak sperm yoğunluğu tespit edilmiş olur.

### 2.3. Anormal sperm oranı

Spermatozoon morfolojisinin incelenmesi amacıyla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Sıvı fiksasyon yönteminde Hancock solüsyonu hazırlanır. 1 ml hancock solüsyonu içeren deney tüpü içerisine 1-2 damla sperma örneği damlatılır. Daha sonra bu karışımdan bir damla bir lam üzerine damlatılır ve üzerine lamel kapatılır. Mikroskop altın X1000'lik bütüme ile spermatozoonlar morfolojik olarak incelenir.

Karras yöntemi ile de preparat hazırlanabilmektedir. Bu yöntemde hazırlanan preparat 24 saat oda ısısında kurutulduktan sonra 10 dakika süre ile iki defa metanol solüsyonunda tespit edilir. 30 dakika kurutulduktan sonra 90 saniye kadar metakromgelb ile boyanır ve sonrasında sarı renk kaybolana kadar su ile yıkanır ve ardından 60 saniye süre ile Eichenrinde solüsyonunda ve takiben 30 saniye kadar viktoriabile solüsyonuna bırakılıp su ile yıkanır. Daha sonrasında kurumaya alınan preparatlar mikroskop altında morfolojik açıdan incelenir (Sönmez, 2015).

Bauer ve ark. (1974) yönteminde ise eşit hacimde sperma ve %5'lik NaHCO<sub>3</sub> bir santrifüj tüpüne yerleştirilir, iyice karıştırılır ve 4.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilir. Süpernatant atılır ve 5 mL normal fizyolojik tuzlu su (FTS) çökeltiye eklendi, iyice

karıştırılır ve tekrar santrifüjlenir. Berrak bir çökelti elde edilene kadar bu prosedür iki ila üç kez tekrarlanır. Son çökeltiye birkaç damla FTS eklenir, iyice karıştırılır ve temiz bir lam üzerine yayma sürüntü hazırlanır. Sürüntü alev üzerinde iki ila üç saniye ısıtılarak sabitlenir ve oda sıcaklığında kurutulur. Sonra sürüntü %95'lik alkol ile yıkanır, süzülür ve kurutulur. Daha sonra %95 alkol ile seyreltilmiş Ziehl Neelson's Carbol Fuchsin'de 3 dakika bekletilir. Daha sonra ve 1:3 (h/h) hacimde sulandırılmış Loeffler metilen mavisi solüsyonunda 2 dakika boyanır. Boyamadan sonra, preparat suda durulanır ve havada kurutulur. Anormal sperm (çift kuyruk, ayık kafa, ayık kuyruklar, orta parça bükülmesi ve düzensiz kafalar) her preparat için en az 200 spermatozoonun morfolojik yapısı incelenerek sayılır. Normal ve anormal sperm nispi oranları yüzde olarak ifade edilir. Ayrıca, ölü sperm oranını belirlemek amacıyla hazırlanmış olan preparatlar üzerinde aynı anda morfolojik incelemelerde yapılarak anormal spermatozoon oranları belirlemek amacıyla kullanılabilir (Aksu ve ark., 2015).

### 2.4. Ölü sperm oranı

Elde edilen sperma örneklerinde ölçülen en önemli spermatolojik parametrelerden birisi de ölü sperm oranıdır. Yapılan çalışmalarda kullanılan ilaç ya da maddelerin spermatozoa üzerine olan etkilerinden reaktif oksijen türlerinin artmasına bağlı olarak şekillenen oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sorumludur. Fizyolojik limitlerde Reaktif oksijen türleri (ROS) spermatozoonların motilitesi, kapasitasyonu ve hiperaktivasyonu ve sperm-oosit etkileşimi için gereklidir. Ancak hücrel antioksidan kapasitesinin çok üzerinde ROS seviyeleri memeli spermatozoonlarının membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin ve sperm membranındaki glikoproteinlerin ve lipoproteinlerin yapısını bozmaktadır (Aksu ve ark, 2019). Membrandan geçebilen boyalar (%1'lik Eosin gibi) ile hazırlanan sperma örneklerinde spermatozoonun baş kısmının boya alıp almamasının belirlenmesi ile ölü sperm oranı tespit edilir. Artan oksidatif stres

sonucu membran lipitlerinin peroksidasyonu boyanın sitoplazmaya geçişini artırmaktadır bu sayede boya alan sperma başı kullanılan boyanın rengi ile boyanırken membran bütünlüğü sağlam olan spermatozoonlar ise boya almamaktadır. Bu amaçla kullanılan yöntem kısaca şu şekildedir; lam üzerine 2 damla eosin boyası konur. Ayrıca arka planı koyulaştırmak ve spermatozoonların daha kolay ayırt edilmesini sağlamak amacıyla fast green (%2'lik), anilin blue (%4'lük) veya nigrosin (%5'lik) boyasından 2 damla damlatılabilir. Üzerine 1 damla kadar sperma örneği konur ve lamel yardımıyla hafifçe karıştırılır ve 55-60 C ye ayarlanmış ısıtıcının önünde kurumaya bırakılır. Kurutulan preparat X400 büyütmede mikroskopta 200-400 arası spermatozoon incelenerek hesaplanır. Baş kısmı boya almış olan

(ölü) spermatozoonlar koyu pembe-mor renkte gözükürken boya almamış olanların (canlı) baş kısmı çok açık pembe veya beyaz renkte gözükür. Sayım sırasında aynı spermatozoonu tekrar saymamak için S şeklinde tarama yapılarak preparatın incelenmesi gerekir. Sayım yapılan spermatozoonların ölü/canlı oranı yüzde (%) olarak hesaplanır (Aksu ve ark, 2015).

### Sperma Referans Değerleri

Yapılan bilimsel çalışmalarda kullanılan kontrol grubunu oluşturan ratlara ait bilgiler (yaş, tür ve adet) ve elde edilen sperma değerleri kullanılarak elde edilen rat sperma parametreleri bilgileri Tablo 1 de sunulmuştur. Verilen değerler ortalama değer  $\pm$  ortalamanın standart hatası (mean value  $\pm$  S.E.M) olarak verilmiştir.

**Tablo 1. Bilimsel çalışmalarda kullanılan ratlara ait sperma değerleri**

Kullanılan rat türü/adedi /yaşı	Ölçülen Sperma Parametreleri Ortalamaları	Kaynak makale
Sprague-Dawley (n=7) Yaş: 13 hafta	Motilite (%) :65.00 $\pm$ 2.04 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :105.937 $\pm$ 12.946 Ölü Sperm (%) :24.21 $\pm$ 1.64 Anormal Sperm oranı (%) :7.74 $\pm$ 0.78	Aksu ve ark. (2017)
Sprague-Dawley (n=7) Yaş: 11 hafta	Motilite (%) : 65.00 $\pm$ 1.5 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :153.214 $\pm$ 12.975 Ölü Sperm (%) : 14.4 $\pm$ 1.4 Anormal Sperm oranı (%) : 6.9 $\pm$ 1.2	Aksu ve ark. (2016b)
Sprague-Dawley (n=5) Yaş:-	Motilite (%) :55.59 $\pm$ 1.20 Sperm yoğ. (x10 <sup>6</sup> ) :135.000 $\pm$ 27.900 Ölü Sperm (%) :34.6 $\pm$ 1.1 Anormal Sperm oranı (%) :30.5 $\pm$ 2.0	Aksu ve ark. (2015)
Sprague-Dawley (n=7) Yaş:-	Motilite (%) :69.43 $\pm$ 2.83 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :53.571 $\pm$ 4.393 Ölü Sperm (%) :15.64 $\pm$ 1.22 Anormal Sperm oranı (%) :6.93 $\pm$ 0.82	Kandemir ve ark. (2020)
Sprague-Dawley (n=7) Yaş: 10 hafta	Motilite (%) :67.14 $\pm$ 3.23 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :53.570 $\pm$ 10.260 Ölü Sperm (%) :10.71 $\pm$ 0.64 Anormal Sperm oranı (%) :5.71 $\pm$ 1.11	İleritürk ve ark. (2021)
Sprague-Dawley (n=6) Yaş:-	Motilite (%) :62.30 $\pm$ 1.10 Ölü Sperm (%) :41.78 $\pm$ 1.76 Anormal Sperm oranı (%) :13.08 $\pm$ 1.27	Ömür ve ark. (2016)
Wistar (n=7) Yaş:-	Motilite (%) :68.3 $\pm$ 2.7 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :45.714 $\pm$ 6.851 Ölü Sperm (%) :19.6 $\pm$ 1.1 Anormal Sperm oranı (%) :6.4 $\pm$ 1.1	Aksu ve ark. (2019)
Sprague-Dawley (n=10) Yaş: 15 hafta	Motilite (%) :74.0 $\pm$ 2.2 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :99.766 $\pm$ 5.228 Canlı Sperm (%) :72.2 $\pm$ 1.5 Anormal Sperm oranı (%) :7.0 $\pm$ 0.5	Aksu ve ark. (2016a)

**Tablo 1. Bilimsel çalışmalarda kullanılan ratlara ait sperma değerleri (Devamı)**

Kullanılan rat türü/adedi /yaşı	Ölçülen Sperma Parametreleri Ortalamaları	Kaynak makale
Sprague Dawley (n=7) Yaş: 13 hafta	Motilite : 61.43±3.89 Sperm yoğunluğu (106) :66.429±9.320 Ölü Sperm :23.4±1.4 Anormal sperm :9.50±1.53	Aksu ve ark. (2018)
Wistar (n=8) Yaş: 18 hafta	Motilite (%) :87.46 ± 3.15 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :1.67 ± 0.24 Normal sperm oranı (%) :84.00 ± 4.55	Ardıç ve ark. (2021)
Sprague Dawley (n=7) Yaş: 3 ay	Motilite :91.57±0.97 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> /g) :281.42±10.32 Anormal sperm :8.28±0.28	Kaya ve ark. (2015)
Sprague Dawley (n=7) Yaş:2,5-3 ay	Motilite :88.76±2.32 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> /g) :282.85±10.50 Anormal sperm :8.00±0.43	Ciftci ve ark. (2014)
Sprague-Dawley (n=6) Yaş:8 hafta	Motilite (%) :73.1±9.23 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :22.83±6.52 Anormal Sperm oranı (%) :2.48±0.09	Türedi ve ark. (2015)
Wistar (n=7) Yaş: 5 aylık	Motilite :74.64 ± 1.99 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :87.40 ± 4.50 Anormal Sperm (%) :10.80 ± 1.98	Türk ve ark. (2016)
Wistar (n= 10) Yaş: 14 hafta	Motilite :66.57±11.41 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :77.00±27.06 Canlı Sperm (%) :78.14±9.08 Normal Sperm oranı (%) :72.71±27.06	Aghaie ve ark. (2016)
Wistar (n=6) Yaş:-	Motilite :81.17±6.40 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :169.65±14.19 Ölü Sperm oranı (%) :8.68±1.04 Anormal Sperm oranı (%) :7.53±0.72	Selvakumar ve ark. (2006)
Wistar (n=4) Yaş:-	Motilite :80.00±4.08 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :83.25±2.32 Canlı Sperm oranı (%) :88.75±2.39 Anormal Sperm oranı (%) :31.00±3.01	Saba ve ark. (2009)
Wistar (n=3-4) Yaş: 3 ay	Canlı sperm oranı (%) :69.5±2.2 Normal Sperm oranı (%) :99.5±0.2	Lucio ve ark. (2013)
Wistar (n=3-4) Yaş: 12 ay	Canlı Sperm oranı (%) :64.3±2.5 Normal Sperm oranı (%) :99.1±0.3	Lucio ve ark. (2013)
Wistar (n=3-4) Yaş: 24 ay	Canlı Sperm oranı (%) :65.5±0.9 Normal Sperm oranı (%) :99.1±0.2	Lucio ve ark. (2013)
Sprague-Dawley (n=10)	Motilite :80.0±9.8 Sperm yoğunluğu :108.3± 5.7	Afifi ve ark. (2015)
Albino (n=10) Yaş:-	Motilite :92.5±4.3 Sperm Yoğunluğu :31.25±5.1 Canlı sperm :96±2.3 Normal sperm :91±2.5	Hussein ve ark. (2016)
Sprague Dawley (n=6) Yaş: 13 hafta	Motilite (%) :65.00± 2.70 Sperm yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> ) :111.428±13.538 Ölü Sperm (%) :24.0±1.9 Anormal Sperm oranı (%) :8.1±0.8	Aksu ve ark. (2016c)

## Sonuç

Sonuç olarak deneysel çalışmalarda hem teminatının kolay ve daha ucuz olması hem de çevresel etkenleri (ısı, ışık, nem, yem ve su vb.) daha standart bir halde tutulabilmesine imkân vermesi dolayısıyla ratların bilimsel çalışmalarda kullanılması sıklıkla başvurulan bir yöntemdir. Rat spermasının ortalama değerleri kullanılan ratın cinsine, yaşına, bakım ve besleme koşullarına ve sperma alma ve değerlendirme yöntemlerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Lucio ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada ratların yaşlandıkça motilite değerlerinin düştüğünü ve sperm yoğunluğunun azaldığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla bir rat spermasının değerlendirilmesi ve sperma parametrelerinin diğer çalışmalardaki sonuçlar ile karşılaştırılması durumunda bu kriterlerin de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Deneyler sonunda kullanılan etken maddelerin spermatolojik parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla sperma elde etme yöntemleri cauda epididimisin trimlenmesi, elektorejakulasyon yöntemi ve çiftleşmeden sonra uterustan toplama şeklinde yapılabilmektedir (Aksu, 2015; Sarıözkan, 2018; Lucio ve ark., 2013). Ratlarda motilite değerleri Sprague Dawley ırkından % 55.59 ile % 91.57 arasında değişkenlik göstermekte iken Wistar ratlarda ise bu değer % 66.57 ile % 87.46 arasında bildirilmiştir. Sperm yoğunluğu Sprague Dawley ırkı ratlarda 22.83 ile 282.85 (x106 sperm/ml) arasında bildirilirken Wistar ırkı ratlarda 1.67 ile 169.65 (x106 sperm/ml) arasında bildirilmektedir. Anormal sperm oranı Sprague dawley ırklarında % 2.48 ile % 30.50 arasında Wistar ırkı ratlarda ise % 0.5 ile % 31.0 arasında bildirilmiştir. Ölü sperm oranı Sprague Dawley ırklarında % 10.71 ile % 41.78 arasında Wistar ratlarda ise % 8.6 ile % 35.7 arasında bildirilmiştir.

Sonuç olarak ratlarda sperma alma yöntemleri, rutin spermatolojik parametrelerin ölçüm yöntemleri ve ortalama sperma değerlerinin bilinmesi yapılan çalışmaların erkek fertilité yönünden

değerlendirilmesinde oldukça büyük bir öneme sahiptir.

## Çıkar Çatışması

Yazar çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

## KAYNAKLAR

1. Afifi M., Almaghrabi O.A., Kadasa N.M., 2015. Ameliorative effect of zinc Oxide Nanoparticles on Antioxidants and Sperm Characteristics in Streptozotcin-Induced Diabetic Rat Testes. *Biomed Res Int.* 2015, 153573
2. Agarwal A., Mulgund A., Hamada A., Chyatte M.R., 2015. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod Biol Endocrinol*, 13:37
3. Aghaie S., Nikzad H., Mahabadi J.A., Taghizadeh M., Azami-Tameh Taherian, A., Sajjadian S.M.S., Kamani M., 2016. Protective effect of combined pumpkin seed and ginger extracts on sperm characteristics, biochemical parameters and epididymal histology in adult male rats treated with cyclophosphamide. *Anat Sci Int*, 91: 382-390
4. Aksu E.H., Akman O., Özkara M., Ömür A., Uçar Ö., 2015. Effect of Maclura Pomifera extract on cisplatin-induced damages in reproductive system of male rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 21, 397-403.
5. Aksu E.H., Akman O., Omur A.D., Karakus E., Can I., Kandemir F.M., Dorman E., Ucar O., 2016a. 3,3 diindolylmethane leads to apoptosis, decreases sperm quality, affects blood estradiol 17  $\beta$  and testosterone, oestrogen ( $\alpha$  and  $\beta$ ) and androgen receptor levels in the reproductive system in male rats. *Andrologia*, 48 (10) 1155-1165. doi:

- 10.1111/and.12554
6. Aksu E.H., Özkaraca M., Kandemir F.M., Ömür A.D., Eldutar E., Küçükler S., Çomaklı S., 2016b. Mitigation of paracetamol-induced reproductive damage by chrysin in male rats via reducing oxidative stress. *Andrologia*, 48(10), 1145-1154.
  7. Aksu E.H., Kandemir F.M., Altun S., Küçükler S., Çomaklı S., Ömür A.D., 2016c. Ameliorative effect of carvacrol on cisplatin-Induced reproductive damage in male rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 30(10), 513-520.
  8. Aksu E.H., Kandemir F.M., Özkaraca M., Ömür A.D., Küçükler S., Çomaklı S. 2017. Rutin ameliorates cisplatin-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress and apoptosis in adult male rats. *Andrologia*, 49(1), e12593.
  9. Aksu E.H., Kandemir F.M., Küçükler S., Mahamadu A., 2018. Improvement in colistin-induced reproductive damage, apoptosis, and autophagy in testes via reducing oxidative stress by chrysin. *J Biochem Mol Toxicol*, 32(11), e22201
  10. Aksu E.H., Kandemir F.M., Yıldırım S., Küçükler S., Dörtbudak M.B., Çağlayan C., Benzer F. 2019. Palliative effect of curcumin on doxorubicin-induced testicular damage in male rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 33(10), e22384.
  11. Ardiç C.M., Ilgın S., Baysal M., Karaduman A.B., Kılıç V., Aydoğan-Kılıç G., Uçarcan Ş., Atlı-Eklioğlu Ö., 2021. Olanzapine induced reproductive toxicity in male rats. *Sci Rep*, 11, 4739
  12. Bastaki M., Mendes O.R., Bauter M.R., Taylor S.V., 2019. Assessment of FD&C Yellow No. 6 (Sunset Yellow FCF) effects on sperm count, motility and viability in the rat in a 28-day toxicity study. *Regul Toxicol Pharmacol* 108, 104479
  13. Bauer J.D., Ackermen P.G., Toro G. *Clinical Laboratory Methods*; The C. V. Mosby Company: Saint Louis, MO, USA, 1974.
  14. Ciftci O., Cetin A., Aydin M., Kaya K., Oguz F., 2014. Fish oil, contained in eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid, attenuates testicular and spermatological damage induced by cisplatin in rats. *Andrologia*, 46(10), 1161-1168.
  15. Dere E., Anderson L.M., Huse S.M., Spade D.J., McDonnell-Clark E., Madnick S.J., Hall S.J., Camacho L., Lewis S.M., Vanlandingham M.M., Boekelheide K., 2018. Effects of continuous bisphenol A exposure from early gestation on 90 day old rat testes function and sperm molecular profiles: A CLARITY-BPA consortium study. *Toxicol Appl Pharmacol*. 15, 347:1-9
  16. Doğanekin E., Özcan S., 2016. Çevresel etkenler ve spermatogenez. *Androloji Bülteni* 18(66), 183-187
  17. Havenaar, R., Meijer J.C., Morton D.B., Ritskes-Hoitinga J., Zwart P. 2003. Chapter 3. Biology, Breeding, and Housing of laboratory Animals. 19-77. In Ed. van Zutphen L.F.M., Baumans, V., Beynen A.C.) "Principles of Laboratory Animal Science", Elsevier Science Limited, Oxford. UK
  18. Hussein M.M., Ali H.A., Saadeldin I.M., Ahmed M.M., 2016. Quercetin Alleviates Zinc Oxide Nanoreprotoxicity in Male Albino Rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 30(10), 489-496.



19. Ileriturk M., Benzer F., Aksu E. H., Yildirim S., Kandemir F. M., Dogan T., Dortbudak M.B., Genc A., 2021. Chrysin protects against testicular toxicity caused by lead acetate in rats with its antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic properties. *J Food Biochem*, 45(2), e13593.
20. Kandemir F.M., Caglayan C., Aksu E.H., Yildirim S., Kucukler S., Gur C., Eser G., 2020. Protective effect of rutin on mercuric chloride-induced reproductive damage in male rats. *Andrologia*, 52(3), e13524.
21. Kaya K., Çiftçi O., Çetin A., Doğan H., Başak N., 2015. Hesperidin protects testicular and spermatological damages induced by cisplatin in rats. *Andrologia*, 47(7), 793-800.
22. Lucio R.A., Tlachi-Lopez J.L., Eguibar J.R., Agmo A., 2013. Sperm count and sperm motility decrease in old rats. *Physiol Behav*, 110-111, 73-79
23. Ömür A.D., Kandemir F.M., Yildirim B.A., Akman O., Şenocak E.A., Eldutar E., Aksu E.H., 2016. Protective Effect of Dandelion (*Taraxacum officinale*) Extract Against Gentamicin-Induced Reproductive Damage in Male Rats. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 22(6):929-936.
24. Saba A.B., Oridupa O.A., Oyeyemi M.O., Osanyigbe O.D., 2009. Spermatozoa morphology and characteristics of male wistar rats administered with ethanolic extract of *Lagenaria Breviflora* Roberts. *Afr J Biotechnol*. 8(7), 1170-1175
25. Sarıözkan S., 2018. Laboratuvar Hayvanlarında Sperma Alma Yöntemleri ve Spermatolojik Referans Değerler. *Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin-Special Topics*. 2018;4(1):50-5
26. Sonmez M. *Reproduksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları*, Elazığ, 2015
27. Türedi S., Yuluğ E., Alver A., Kutlu Ö., Kahraman C., 2015. Effects of resveratrol on doxorubicin induced testicular damage in rats. *Exp Toxicol Pathol*. 67, 229-235
28. Türk G., Sönmez M., Aydın M., Yüce A., Gür S., Yüksel M., 2008. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr* 27, 289–296.
29. Türk G., Çeribaşı S., Sönmez M., Çiftçi M., Yüce A., Güvenç M., Kaya Ş.Ö., Çay M., Aksakal M., 2016. Ameliorating effect of pomegranate juice consumption on carbon tetrachloride-induced sperm damages, lipid peroxidation, and testicular apoptosis. *Toxicol Ind Health*, 32(1), 126-137.