

Döl Tutmayan İnek ve Düvelerde Penetrasyon Testinin Kullanım Olanakları *

İbrahim DOĞAN** Hazım GÖKÇEN***

Geliş Tarihi: 15.09.2000

Özet: Bu çalışmada, Servikal Mukus Penetrasyon Testi uygulanan 50 adet döl tutmayan inek ve düvenin, servikal mukus ile kan serumlarında aglütinasyon reaksiyonunun saptanması ve anılan olgunun spermatozoon motilitesi ve migrasyon değerleri üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlandı. Deneme grubunu tohumlamada kullanılan, kontrol grubunu ise tohumlamada kullanılmayan dondurulmuş boğa spermaları oluşturdu.

Deneme grubunda aglütinasyon reaksiyonu servikal mukus örneklerinin 9'unda (%18) pozitif, 41'inde (%82) negatif olarak saptandı. Kontrol grubunda ise aglütinasyon reaksiyonu servikal mukus örneklerinin hepsinde negatif olarak tespit edildi.

Deneme ve kontrol gruplarına ait ortalama motilite ve migrasyon değerleri 9 adet servikal mukus örneğinde %7.22±1.69, %8.89±2.61 ve 1.85±0.22 cm, 3.61±0.29 cm (P<0.01); 41 adet servikal mukus örneğinde ise %8.04±1.16, %11.34±1.56 (P<0.05) ve 3.31±0.23 cm, 3.72±0.22 cm olarak ölçüldü. Ayrıca deneme gruplarına ait migrasyon değerleri istatistiksel olarak önemli bulundu (P<0.001).

Deneme ve kontrol gruplarına ait aglütinasyon derecesi, ortalama motilite ve migrasyon değerleri 9 adet kan serum örneğinin 1'inde kuvvetli (%11.11), 2'sinde orta (%22.22), 6'sında normal (%66.66), %31.11±2.86, 0.51±0.07 cm ve 1'inde kuvvetli (%11.11), 2'sinde orta (%22.22), 6'sında normal (%66.66), %27.77±4.86, 0.46±0.08 cm; 41 adet kan serum örneğinin ise 7'sinde kuvvetli (%17.07), 14'ünde orta (%34.14), 20'sinde normal (%48.78), %22.07±1.75, 0.63±0.03 cm ve 8'inde kuvvetli (%19.51), 18'inde orta (%43.90), 15'inde normal (%36.58), %20.85±1.74 ve 0.69±0.04 cm olarak ölçüldü. Ayrıca deneme gruplarına ait motilite değerleri istatistiksel olarak önemli bulundu (P<0.05).

Sonuç olarak, servikal mukusta oluşan aglütinasyon reaksiyonunun spermatozoonların motilitesini ve migrasyon değerlerini olumsuz yönde etkilediğini düşünmek olasıdır. Ayrıca kan serumuna ait bulguların servikal mukus bulgularını destekler nitelikte olmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kan serumu, servikal mukus, servikal mukus penetrasyon testi, sperma, boğa.

The using possibilities of penetration test in repeat breeder cows and heifers

Summary: In this study, the purpose was to determine agglutination reaction in cervical mucus and serum samples of 50 repeat breeder cow and heifers on which Cervical Mucus Penetration Test was applied, to investigate the effect of mentioned situation on sperm motility and migration values. Frozen bull sperm used for artificial insemination and never used for artificial insemination formed test and control groups, respectively.

In test group, agglutination reaction was positive in 9 samples (18%) and negative in 41 samples (82%) in cervical mucus samples. However, in control group, agglutination reaction was negative in all samples.

Average motility and migration values belonging to test and control groups were measured as 7.22%±1.69, 8.89±2.61 and 1.85±0.22 cm, 3.61±0.29 cm (P<0.01) in 9 cervical mucus samples; and 8.04±1.16, 11.34±1.56

* Aynı adlı doktora tezinden özetlenmiştir.

** Yard. Doç. Dr., U.Ü. Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Bursa - TÜRKİYE

*** Prof. Dr., Degol Cad. Tandoğan Ankara - TÜRKİYE

($P<0.05$) and 3.31 ± 0.23 cm, 3.72 ± 0.22 cm in 41 cervical mucus samples. In addition, migration values of test groups were found statistically important ($P<0.001$).

Agglutination grade, average motility and migration values in 9 blood serum samples were determined as strong in one of samples (11.11%), medium in two of samples (22.22%), normal in six of samples (66.66%), 31.11 ± 2.86 and 0.51 ± 0.07 cm in test group; and strong in one of samples (11.11%), medium in two of samples (22.22%), normal in six of samples (66.66%), 27.77 ± 4.86 and 0.46 ± 0.08 cm in control group; in 41 blood serum samples, the same values were found as strong in 7 of samples (17.07%), medium in 14 of samples (34.14%), normal in 20 of samples (48.78%), 22.07 ± 1.75 and 0.63 ± 0.03 cm in test group; and strong in 8 of samples (19.51%), medium in 18 of samples (43.90%), normal in 15 of samples (36.58%), 20.85 ± 1.74 and 0.69 ± 0.04 cm in control group. Moreover, values of motility belonging to test group were determined as statistically important ($P<0.05$).

As a result, it is possible to think that agglutination reaction happened in cervical mucus can negatively affect the values of motility and migration of spermatozoa. Also, it can be concluded that the results of blood serum did not support the results of cervical mucus

Key Words: Blood serum, cervical mucus, cervical mucus penetration test, semen, bull.

Giriş

İnfertilite konusunda yanıt bulunamamış sorunlardan birisi de antisperma antikorlarının infertilite olgusu üzerindeki etki derecesidir^{7,21}. Spermanın antijenik bir yapı olduğu 20. yüzyılın başında bulunmuş olmasına karşın^{7,10}, fertilite üzerindeki baskılayıcı etkisi yine aynı yüzyılın ortasında anlaşılmıştır³². Son yıllarda erkek ve dişilerin genital sistemlerini konu alan araştırmalarda lokal antikor üretimine ilaveten, immun tepkiye neden olan hücrelerin bulunması, infertilite olgularının immunolojik olarak da değerlendirilmesi gerektiğini gündeme getirmiştir²⁴. Alexander⁵, immunolojik faktörlerin infertilite üzerindeki etiyolojik payının, diğer infertilite etkenleri göz önünde tutulduğunda çok küçük olduğunu öne sürmüştür. Barlow⁶ ise, infertilite olgusunun antisperma antikorlarından kaynaklandığını ileri sürmeden önce, infertiliteye neden olan diğer faktörlerin mutlaka elimine edilmesi gerektiğini bildirmektedir. Bronson ve ark. da⁷, antisperma antikorlarının steriliteden çok subfer-tiliteye yol açtığını ileri sürmüşlerdir.

Ürogenital kanalda spermaya karşı lokal olarak oluşan izoantikorlar, spermatozoonların fonksiyonları üzerinde farklı etkilere sahiptirler. Bunların arasında spermatozoon motilitesinde azalma, migrasyonun engellenmesi ve aglütinasyon reaksiyonu gibi faktörler sayılmaktadır^{2-4,20}. Sperma ile servikal mukus arasındaki etkileşimin klinik olarak incelenmesi, antisperma antikorlarının infertiliteye neden olup olmadığının anlaşılmasında yararlı olabileceği ileri sürülmüştür^{3,12,15,31}. Bu amaçla basit postkoital test³¹ ile sperm-mukus penetrasyonu¹⁷ ve sperm-mukus kontaktına⁸ ilişkin testler kullanılmaktadır.

Servikal mukus penetrasyon testi pek çok araştırmacı tarafından basit, pratik ve güvenilir olması nedeniyle kimi infertilite olgularının muayenesinde kullanılmıştır^{1,12,22,26,33}. Zafracas ve ark.³³, 50 adet döl tutmayan (repeat breeder) ineğin servikal mukus örneklerinde aglütinasyon reaksiyonunun 33'ünde (%66) pozitif, 17'sinde (%34) ise negatif olduğunu saptamışlardır. Bu alanda yapılan diğer çalışmalarda, sperma antijenlerine karşı oluşan izoantikorlar, repeat breeder ineklerin servikal mukuslarında bulunduğu çeşitli serolojik testlerle ortaya konmuştur. Jel Difüzyon Testiyle yapılan bir çalışmada, 52 repeat breeder inek ve düvenin servikal mukus örneklerinin üçünde (%5.77) presipitasyon reaksiyonunun olduğu görülmüştür¹³. Panchal ve ark.²⁷, 135 adet repeat breeder bufalonun servikal mukusları üzerinde yaptıkları çalışmada, antisperma antikorlarının 16 örnekte (%11.85) bulunduğunu saptamışlardır. Seshagiri ve ark.²⁹, Tube-Slide Aglütinasyon Testi ile yaptıkları çalışmada, 59 adet repeat breeder ineğin servikal mukuslarında antisperma antikorlarının 4 örnekte (%6.6) bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Dondurulmuş boğa sperması kullanarak oda ısısında yaptıkları in vitro denemede Matousek ve ark.²², aglütinasyon reaksiyonu, motilite ve migrasyon değerlerini servikal mukus örneklerinde sırasıyla negatiften zayıfa, %0. 0-30 ve 14 ± 11 mm; kan serum örneklerinde ise zayıftan kuvvetliye, %10-40 ve 33 ± 14 mm olarak bulmuşlardır. Galli ve ark.¹¹, dondurulmuş boğa sperması kullandıkları servikal mukus penetrasyon testinde migrasyon parametresini 37°C ve 21°C 'de sırasıyla 28.5 ± 15.1 mm ve 18.1 ± 12.6 mm olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar 20 mm'den küçük ve büyük migrasyon değeri gösteren test

örnekleri için dondurulmuş boğa spermasının ortalama progresif motilite değerini sırasıyla 20.8 ± 11.51 ile 30.5 ± 12.7 olarak bildirmişlerdir. Lorton ve ark¹⁹ ise, iki ayrı düveden topladıkları servikal mukuslar ile aynı boğanın dondurulmuş spermasını kullandıkları testte, 37°C 'de ve 15 dk'lık süre sonunda migrasyon değerlerini sırasıyla 33.2 ± 1.6 mm ve 41.6 ± 2.2 mm olarak belirlemişlerdir. Taze ve donmuş boğa sperması kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada ise, migrasyon parametresi 38°C 'de ve 10 dk'lık süre sonunda 66.9 ± 1.9 mm ile 58.7 ± 1.3 mm olarak bulunmuştur²⁵.

Bu çalışmada, Servikal Mukus Penetrasyon Testi uygulanan döl tutmayan inek ve düvelerin servikal mukus ile kan serum örneklerinde aglütinasyon reaksiyonunun saptanması ve anılan olgunun spermatozoon motilite ve migrasyon değerleri üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırma, Karacabey Tarım İşletmesinde bulunan 50 adet döl tutmayan (Repeat Breeder; RB) inek ve düve üzerinde yapıldı. Kullanılan materyal, en az üç kez aynı boğanın dondurulmuş spermasıyla tohumlandığı halde gebe kalmayan ve RB'in klinik tanımına uyan inek ve düveler arasından seçildi⁹. Spontan östrusta olan her bir inek ve düvenin, orifisium uteri eksternasından 2 ml servikal mukus ve vena jugularisinden 10 ml kan örneği toplandı. Bu esnada mukusa idrar, dışkı ve kanın bulaşmamasına dikkat edildi. Kan örnekleri santifüje edildi ve serumları çıkarıldı. Karaköy Tarım İşletmesi Sun'ü Tohumlama Laboratuvarında 0.25 ml'lik payetlerde dondurulmuş olan ve çalışmanın yürütüldüğü işletmede rutin sun'ü tohumlamada kullanılan boğa spermaları kullanıldı. Araştırma materyali olarak ayrılan inek ve düvelerin tohumlanmasında daha önce kullanılan boğa sperması deneme grubunu, daha önce tohumlamada hiç kullanılmamış boğa sperması ise kontrol grubunu oluşturdu. Payetler 34°C 'lik su banyosunda 15 saniyede çözündürüldü.

Çalışmada metot olarak kullanılan Servikal Mukus Penetrasyon Testi, Alexander¹ ile Matousek ve ark.²², tarafından bildirilen test metoduna temelde bağlı kalınarak yapıldı. Teste tabi tutulan servikal mukus ya da kan serum örnekleri için 75 mm uzunluğunda ve 1.5 mm

çapında hematokrit kapillar tüpler kullanıldı. Her bir mukus ya da serum numunesi için iki adet tüp kullanıldı ve örnekler tüpün içine vakumla çekildi. Sonra bu tüplerden birine deneme, diğerine ise kontrol grubuna ait boğa sperması eşit miktarda çekilerek tüplerin ağızları medikal vazelinle kapatıldı. Bu işlemi takiben tüpe çekilmiş olan mukus ya da serum örneği ile spermanın birleşme noktası tüp yüzeyinde asetat kalemiyle belirlendi. İçinde mukus bulunan tüpler 90 dk içinde serum bulunan tüpler ise 2 dk 25°C 'lik etüvde inkübas-yona bırakıldı.

Bu süre sonunda mukus ve serum örneklerinin bulunduğu deneme ve kontrol test tüplerinde, aglütinasyon, motilite ve migrasyon değerleri saptandı. Baş-baş ya da kuyruk-kuyruğa sperma-tozoon kümelerinin (aglütinasyon) test tüplerinde bulunup bulunmadığı mikroskop (x400) altında incelendi. Yalnız serum tüpleri aglütinasyon reaksiyonunun şiddetine göre kuvvetli, orta ve normal olmak üzere üç derecede değerlendirildi. Test tüplerinde spermatozoon motilitesi en az üç ayrı mikroskop alanında ileri yönde, hızlı hareketli spermatozoonların oranı olarak tespit edildi ve % olarak değerlendirildi. Migrasyon değeri, mikroskop altında servikal mukus ya da kan serum örneğinin spermayla birleşme noktasından en ilerideki spermatozoon arasındaki uzaklığın cm olarak ölçülmesiyle belirlendi. Bağımsız grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, bağımlı grupların karşılaştırılmasında ise Student-t testi kullanılarak istatistiksel analizler yapıldı.

Bulgular

Deneme grubunda aglütinasyon reaksiyonu servikal mukus örneklerinin 9'unda (%18) pozitif, 41'inde (%82) ise negatif olarak saptandı. Kontrol grubunda ise anılan reaksiyon servikal mukus örneklerinin hepsinde negatif olarak tespit edildi.

Aglütinasyon reaksiyonu deneme grubunda pozitif kontrol grubunda ise negatif olan 9 adet servikal mukus örneğinde anılan gruplara ait ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla 7.22 ± 1.69 ve 1.85 ± 0.22 cm; 8.89 ± 2.61 ve 3.61 ± 0.29 cm olarak saptandı. Aglütinasyon reaksiyonu pozitif ve negatif olarak saptanan deneme (n=9) ve kontrol (n=9) grupları arasında motilite değerleri istatistiksel olarak önemli

bulunmazken, migrasyon değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$). Aglutinasyon reaksiyonu hem deneme hem de kontrol gruplarında negatif olan 41 adet servikal mukus örneğinde her iki gruba ait ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla 8.04 ± 1.16 , 3.31 ± 0.23 cm; 11.34 ± 1.56 ve 3.72 ± 0.22 cm olarak ölçüldü. Aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan deneme ($n=41$) ve kontrol ($n=41$) grupları arasında migrasyon değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmazken, motilite değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu pozitif ($n=9$) ve negatif ($n=41$) olarak saptanan deneme grupları arasında motilite değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmazken, migrasyon değerleri istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.001$) (Tablo I).

Tablo I. Servikal mukus örneklerinde pozitif ve negatif aglutinasyon reaksiyonu saptanan deneme ve kontrol gruplarına ait ortalama motilite ve migrasyon değerleri.

Aglütinasyon	Servikal Mukus (n)	Deneme ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)	Kontrol ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)
		Motilite (%)	
Pozitif	9	7.22 ± 1.69	8.89 ± 2.61
Negatif	41	8.04 ± 1.16^1	11.34 ± 1.56^2
		Migrasyon (cm)	
Pozitif	9	1.85 ± 0.22^{Bb}	$3.61 \pm 0.29_a$
Negatif	41	3.31 ± 0.23^A	3.72 ± 0.22

1, 2= Aynı satırda farklı rakam taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($P<0.05$).

a, b= Aynı sütunda farklı harfler taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($P<0.01$).

A, B= Aynı sütunda farklı harfler taşıyan gruplar arası fark önemlidir ($P<0.001$).

Servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu deneme grubunda pozitif kontrol grubunda ise negatif olan 9 adet materyalin kan serumlarında aglutinasyon derecesi deneme grubunun 1'inde kuvvetli (%11.11), 2'sinde orta (%22.22) ve 6'sında normal (%66.66); kontrol grubunun ise 1'inde kuvvetli (%11.11), 2'sinde orta (%22.22) ve 6'sında normal (%66.66) olarak değerlendirildi. Servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu hem deneme hem de kontrol grubunda negatif olan 41 adet materyalin kan serumlarında aglutinasyon derecesi deneme grubunun 7'sinde kuvvetli (%17.07), 14'ünde

orta (%34.14), 20'sinde normal (%48.78); kontrol grubunun ise 8'inde kuvvetli (%19.51), 18'inde orta (%43.90), 15'inde normal (%36.58) olarak bulundu (Tablo II).

Tablo II. Kan serum örneklerinde deneme ve kontrol gruplarına ait aglutinasyon değerleri

Aglütinasyon Derecesi	Deneme (+)		Kontrol (-)		Deneme (-)		Kontrol (-)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Normal	6	66.66	6	66.66	20	48.78	15	36.58
Orta	2	22.22	2	22.22	14	34.14	18	43.90
Kuvvetli	1	11.11	1	11.11	7	17.07	8	19.51
Toplam	9	100	9	100	41	100	41	100

Servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu deneme grubunda pozitif kontrol grubunda ise negatif olan 9 adet materyalin kan serumlarında ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme grubunda 31.11 ± 2.86 ve 0.51 ± 0.07 cm; kontrol grubunda ise 27.77 ± 4.86 ve 0.46 ± 0.08 cm olarak ölçüldü ve değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı saptandı. Servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu hem deneme hem de kontrol grubunda negatif olan 41 adet materyalin kan serumlarında ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme grubunda 22.07 ± 1.75 , 0.63 ± 0.03 cm; kontrol grubunda ise 20.85 ± 1.74 ve 0.69 ± 0.04 cm olarak bulundu ve değerler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görüldü. Servikal mukus örneklerinde pozitif ($n=9$) ve negatif ($n=41$) aglutinasyon reaksiyonu saptanan deneme gruplarına ait kan serum örneklerinde migrasyon değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmazken, motilite değerleri istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$) (Tablo III).

Tablo III. Kan serum örneklerinde deneme ve kontrol gruplarına ait ortalama motilite ve migrasyon değerleri

Aglütinasyon	Kan serumu (n)	Deneme ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)	Kontrol ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)
		Motilite (%)	
Pozitif	9	31.11 ± 2.86^A	27.77 ± 4.86
Negatif	41	22.07 ± 1.75^B	20.85 ± 1.74
		Migrasyon (cm)	

Pozitif	9	0.51±0.07	0.46±0.08
Negatif	41	0.63±0.03	0.69±0.04

A, B= Aynı sütunda farklı harfler taşıyan gruplar arası fark önemlidir (P<0.05).

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada deneme grubuyla test edilen 50 adet servikal mukus örneğinde aglütinasyon reaksiyonu 9'unda (%18) pozitif, 41'inde (%82) ise negatif olarak saptandı. Aynı servikal mukus örnekleri kontrol grubuyla test edildi ve hiçbir örnekte aglütinasyon reaksiyonu oluşmadığı görüldü. Bu çalışmada saptanan aglütinasyon reaksiyonu benzer yöntem uygulayan Zafracas ve ark.'nın³³, bulgularından düşük, fakat değişik test yöntemi uygulayan diğer araştırmacıların^{13,27,29} bulgularından ise oran itibarıyla yüksek bulunmuştur. Matousek ve ark.²² ise, servikal mukus örneklerinde negatiften zayıfa değişen oranlarda aglütinasyon reaksiyonu saptamışlardır. Çalışmada saptanan bulgular ile diğer araştırma verileri arasındaki fark, değişik test tekniklerinin kullanılmasından ve döl tutmayan inek ve düvelerin seçiminden kaynaklanmış olabilir.

Aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet servikal mukus örneğinde deneme ve kontrol gruplarına ait ortalama motilite değerleri sırasıyla %7.22±1.69 ile %8.89±2.61 olarak bulundu. Gruplar arasında ortalama motilite değerlerine bakıldığında, deneme ve kontrol grupları arasında farkın çok az olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir. Deneme grubunda saptanan ortalama motilite değeri, servikal mukus örneklerinde negatiften zayıfa değişen oranlarda aglütinasyon reaksiyonu saptayan Matousek ve ark.'nın²² bildirdikleri alt ve üst motilite sınırları içerisinde bulunmasına karşın, aynı çalışmada saptanan en yüksek motilite değerinden oldukça düşük olduğu görülmektedir. Araştırma bulguları ile literatür verileri arasındaki fark, servikal mukusta antis-perma antikorlarının bulunmasına ve mukusta oluşan aglütinasyon reaksiyonunun şiddetine bağlanabilir. Nitekim, anılan savı destekler yönde çeşitli literatür verileri de bulunmaktadır.^{1,21,23,30}

Aglütinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet servikal mukus örneğinde deneme ve kontrol gruplarına ait ortalama motilite değerleri sırasıyla %8.04±1.16 ve %11.34±1.56 olarak saptanmıştır. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, deneme grubuna oranla kontrol

grubunda daha yüksek oranda motilite değeri bulunmuştur. Ayrıca gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak da önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). Her iki grup arasındaki fark, kontrol grubunda tek bir boğanın dondurulmuş spermasının kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Çalışmada elde edilen motilite bulgularının, Galli ve ark.¹¹'nin bildirdikleri verilerden çok düşük olduğu görülmektedir.

Ayrıca bu çalışmada servikal mukus örneklerinde aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan deneme grubuna ait ortalama motilite (%7.22±1.69) değeri, servikal mukus örneklerinde aglütinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan deneme grubuna ait ortalama motilite (%8.04±1.16) değerlerinden düşük bulunmuştur. Üstelik, yukarıda anılan iki gruba ait ortalama motilite değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Araştırmaya ait motilite bulguları ile literatür verileri arasındaki fark; yaş ejakülasyon sıklığı ve antikorlar gibi endojen ya da ısı ve viskozite gibi ekzojen faktörlerden etkilenmiş olabileceği gibi, soyut bir değerlendirme tekniği olmasından da kaynaklanmış olabilir.

Aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet servikal mukus örneğinde deneme ve kontrol gruplarına ait ortalama migrasyon değerleri sırasıyla 1.85±0.22 cm ile 3.61±0.29 cm olarak ölçüldü. Yukarıda anılan iki gruba ait ortalama migrasyon değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01). Sonuçlardan da izlenebileceği gibi, deneme grubuna ait ortalama migrasyon değeri kontrol grubundan düşük, servikal mukus örneklerinde negatiften zayıfa değişen oranlarda aglütinasyon reaksiyonu saptayan Matousek ve ark.'nın²² bildirdikleri migrasyon değerine ise yakın olduğu görülmektedir. Yapılan bu araştırmanın sonucuna ve literatür^{1,4,20,23} verilerine dayanarak, servikal mukusta bulunan izoantikorların spermatozo-onların migrasyon hareketini olumsuz yönde etkilediğini düşünmek olasıdır.

Aglütinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet servikal mukus örneğinde migrasyon değerleri, deneme ve kontrol grupları için 3.31±0.23 cm ile 3.72±0.22 cm olarak saptanmıştır. Elde edilen ortalama migrasyon değerlerine bakıldığında, deneme ve kontrol grupları arasında farkın bulunduğu, ancak bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı

görülmektedir. Değerler arasındaki bu fark, kontrol grubunda tek boğa spermasının kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Yukarıda anılan deneme (3.31 ± 0.23 cm) grubuna ait migrasyon değeri, servikal mukus örneklerinde aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan deneme (1.85 ± 0.22 cm) grubuna ait ortalama migrasyon değerinden yüksek bulunmuş ve gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.001$). Galli ve ark.¹¹, dondurulmuş boğa sperması kullandıkları penetrasyon testinde, anılan parametreyi 90 dk süreyle 37°C ve 21°C 'de sırasıyla 28.5 ± 15.1 mm ile 18.1 ± 12.6 mm olarak saptadıklarını bildirmektedirler. Çalışmada elde edilen bulgular ile literatür verileri arasındaki fark, testin in vitro olarak farklı ısılarda yapılmasından ve çalışmada kullanılan servikal mukusun fizikokimyasal yapısından kaynaklanmış olabilir. Nitekim, Lorton ve ark.¹⁹, iki ayrı düveden topladıkları servikal mukuslar ile aynı boğanın dondurulmuş spermasını kullanarak 37°C 'de 15 dk. süreyle yaptıkları penetrasyon testinde, migrasyon değerlerini sırasıyla 33.2 ± 1.6 mm ve 41.6 ± 2.2 mm olarak saptamışlardır. Alexander¹ da, servikal mukusta bulunan su oranının %85 ile %98 arasında değiştiğini ve mukusta su oranının %95'in altına indiği zaman spermatozoon migrasyonunun hızla azaldığını bildirmektedir. Anılan faktörlerin dışında, spermatozoon motilitesiyle servikal mukus içindeki migrasyon değeri arasında pozitif bir ilişkinin olduğu bir çok araştırmacı tarafından ileri sürülmüştür^{1,16,22,25,26}. Kumar ve ark.¹⁸, soğutularak ve dondurularak saklanmış boğa spermasını kullanarak yaptıkları penetrasyon testinde migrasyon değerlerini 37°C 'de 20 dk. süreyle 49.90 mm ve 58.58 mm olarak saptamışlardır. Yazarlar ısıyı düşürülerek ve dondurularak saklanan spermalar arasındaki parametre farkını, soğukta saklama süresince spermada bulunan enerji rezervinin azalmasına bağlamaktadırlar. Nitekim, Okuda ve ark.²⁵, yaptıkları araştırmada taze ve dondurulmuş boğa spermasının migrasyon değerlerini 38°C ve 10 dk'lık süre sonunda 66.9 ± 1.9 mm ile 58.7 ± 1.3 mm olarak bildirmektedirler. Adı geçen faktörlerin dışında, spermatozoon konsantrasyonu²⁸ ile kimi morfolojik bozuklukların^{14,16,26} spermatozo-onların servikal mukusta migrasyon değerlerini olumsuz yönde etkilediği ileri sürülmüştür. Nitekim, Jeulin ve ark.¹⁴, kuyruk ya da orta kısma ait defektlerin spermatozoonların servikal mukusta migrasyona

izin vermediği halde, baş bölgesine ait defektlerle anılan durumun oluşmadığını bildirmişlerdir.

Servikal mukuslarında aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet materyalin kan serum örneklerinde aglütinasyon derecesi, deneme ve kontrol gruplarında, örneklerin 1'inde kuvvetli (%11.11), 2'sinde orta (%22.22), 6'sında normal (%66.66) olmak üzere benzer oranda bulundu.

Servikal mukuslarında aglütinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet inek ve düvenin kan serum örneklerinde aglütinasyon derecesi, deneme grubunda örneklerin 7'sinde kuvvetli (%17.07), 14'ünde orta (%34.14) ve 20'sinde normal (%48.78); kontrol grubunda ise örneklerin 8'inde kuvvetli (%19.51), 18'inde orta (%43.90) ve 15'inde normal (%36.58) olarak saptandı.

Kan serumunda spermatozoonları aglutinasyona uğratan kimi antikorların bulunması deneme ve kontrol gruplarına ait sonuçların benzer oranda oluşmasına neden olmuş olabilir. Nitekim, kan serum örneklerinde zayıftan kuvvetliye değişen oranda aglütinasyon reaksiyonu saptayan Matousek ve ark.²²'nin verileri ile araştırmada elde edilen veriler arasında da bir benzerlik olduğu görülmektedir.

Servikal mukuslarında aglütinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet inek ve düvenin kan serum örneklerinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme grubunda sırasıyla 31.11 ± 2.86 ve 0.51 ± 0.07 cm; kontrol grubunda ise 27.77 ± 4.86 ve 0.46 ± 0.08 cm olarak bulundu. Yukarıda anılan değerler incelendiğinde, deneme grubuna ait her iki parametrenin biraz yüksek olduğu görülmektedir. Yine de anılan gruplar arasında istatistiksel bir farkın olmadığı saptanmıştır.

Servikal mukuslarında aglütinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet materyalin kan serum örneklerinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme grubunda sırasıyla 22.07 ± 1.75 , 0.63 ± 0.03 cm; kontrol grubunda ise 20.85 ± 1.74 ve 0.69 ± 0.04 cm olarak bulundu. Her iki parametre yönünden deneme ve kontrol grupları arasında istatistiksel bir farkın olmadığı görülmekle birlikte, motilite değeri deneme, migrasyon değeri ise kontrol grubunda daha yüksek oranda elde edilmiştir. Servikal mukus örneklerinde pozitif ve negatif aglütinasyon reaksiyonu saptanan deneme gruplarına ait kan serum örneklerinde migrasyon

değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmazken, motilite değerleri istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$).

Deneme ve kontrol gruplarına ait spermatozoonların kan serum örneklerinde benzer oranda aglütinasyona uğramaları, her iki gruba ait motilite ve migrasyon değerlerinin birbirine yakın oranda oluşmasına yol açmış olabilir. Araştırmada saptanan motilite değerleri ile Matousek ve ark.²²'nin bildirdikleri motilite değeri uyumlu bulunmuş olmasına karşın, migrasyona ait bulguların farklı olduğu görülmektedir. Bu fark, ölçüm yönteminden ve serumunda oluşan aglütinasyon reaksiyonunun şiddetinden kaynaklanmış olabilir.

Sonuç olarak, Servikal Mukus Penetrasyon Testi kimi repeat breeder inek ve düvelerin etiolojisinde rol oynayan antisperma antikollarının klinik tanısında yararlı olabileceği ve aglütinasyonun, spermatozoonların motilite ve migrasyon gücü üzerinde negatif bir etki yarattığı kanısına varılmıştır. Ayrıca, servikal mukusunda pozitif aglütinasyon reaksiyonu saptanan inek ve düvelerin kan serum örnekleriyle yapılan Penetrasyon Testinde deneme ve kontrol gruplarına ait aglütinasyon, motilite ve migrasyon değerlerinin servikal mukus bulgularını destekler nitelikte olmadığı görülmüştür. Evcil hayvanlar hakkında bilinen reproduktif immunoloji bilgilerinin ışığında kimi infertilite problemlerinin kuramsal ve pratik çözümü için değişik immunolojik test yöntemlerinin, çeşitli hayvan modelleri üzerinde deneysel ve olgu çalışmalarıyla desteklenmesinin konunun daha iyi anlaşılması açısından yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. ALEXANDER, N.J.: Evaluation of male infertility with an in vitro cervical mucus penetration test. *Fertil. Steril.*, 36, 201-206 (1981).
2. ALEXANDER, N.J.: Antibodies to human spermatozoa impede sperm penetration of cervical mucus or hamster eggs. *Fertil. Steril.*, 41, 433-439 (1984).
3. ALEXANDER, N.J., ANDERSON, D.J.: Immunology of semen. *Fertil. Steril.*, 47, 192-205 (1987).
4. ALEXANDER, N.J.: Natural and induced immunological infertility. *Current Opinion in Immunology*, 1, 1125-1130 (1989).
5. ALEXANDER, N.J.: Reproductive immunology: Relevance to infertility practice. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 38, 23-30 (1990).
6. BARLOW, D.H.: Antisperm antibodies on infertility. *Br. Med. J.*, 296, 310-311 (1988).
7. BRONSON, R.A., COOPER, G.W., RASENFELD, D.L.: Sperm antibodies: Their role in infertility. *Fertil. Steril.*, 42, 171-183 (1984).
8. BRONSON, R.A., COOPER, G.W., ROSENFELD, D.L.: Seminal fluid antisperma antibodies do not reflect those present on the sperm surface. *Fertil. Steril.*, 48, 505-506 (1987).
9. DİNÇ, D.A.: Döl tutmayan (Repeat Breeder) hayvanlar. *Theriogenology*, Ed. ALAÇAM, E. Nuro Matbaacılık A.Ş., Ankara, 233-240 (1990).
10. FARAHANI, J.K., TOMPKINS, W., WAGNER, W.C.: Reproductive status of cows and incidence of antisperm antibodies. *Theriogenology*, 15, 605-612 (1981).
11. GALLI, A., BASETTI, M., BALDUZZI, D., MARTIGNONI, M., BORNAGHI, V., MAFFII, M.: Frozen bovine semen quality and bovine cervical mucus penetration test. *Theriogenology*, 35, 837-844 (1991).
12. HAYES, M. F., SEGAL, S., MOGHISSI, K.S., MAGYAR, D.M., AGRONOW, S.: Comparison of the in vitro sperm penetration test using human cervical mucus and bovine estrus cervical mucus with the postcoital test. *Int. J. Fertil.*, 29, 133-135 (1984).
13. HOTTA, D., MOHANTY, B.N., MOHANTY, D.N., RAY, B.K.H.: Immunological precipitation test of bovine semen. *Indian Journal of Animal Sciences*, 60, 143-144 (1990).
14. JEULIN, C., SOUMAN, A., JOUANNET, P.: Morphological factors influencing the penetration of human sperm into cervical mucus in vitro. *Int. J. Androl.*, 8, 215-223 (1985).
15. JONES, W.R.: Immunologic infertility fact or fiction. *Fertil. Steril.*, 33, 577-586 (1980).
16. KOTOULAS, I.B., BURGOS-BRICENO, L.A., ARANA, J., BALMACEDA, J.P., ASCH, R.H.: Human sperm penetration in bovine cervical mucus clinical studies. II. Uses of split ejaculates. *Fertil. Steril.*, 42, 268-273 (1984).
17. KREMER, J.: A simple sperm penetration test. *Int. J. Fertil.*, 10, 209-215 (1965).
18. KUMAR, Y., SINHA, S.H., AKHTAR, M.H.: Penetration rate of chilled and frozen sperms from Jersey bulls and levels of certain electrolytes in the oestrous mucus of cows. *Br. Vet. J.*, 139, 452-455 (1983).
19. LORTON, S.P., KUMMERFELD, H.L., FOOTE, R.H.: Polyacrylamide as a substitute for cervical

- mucus in sperm migration tests. *Fertil. Steril.*, 35, 222-225 (1981).
20. MANARANG-PANGAN, S., BEHRMAN, S.J.: Spermatoxicity of immune sera in human infertility. *Fertil. Steril.*, 22, 145-151 (1971).
 21. MANDELBAUM, S.L., DIAMOND, M.P., deCHERNEY, A.H.: The impact of antisperm antibodies on human infertility. *J. Urol.*, 138, 1-8 (1984).
 22. MATOUSEK, J., RIHA, J., SRSEN, V., VESELSKY, L., LOUDA, F.: Penetration of cervical mucus and other body fluids by bull sperm in capillary tubes. *Animal Reproduction Science*, 18, 161-165 (1989).
 23. MENGE, A.C., BURKONS, D.M., FRIEDLAENDER, G.E.: Occurrence of embryo mortality in rabbits isoimmunized against semen. *Int. J. Fertil.*, 17, 93-96 (1972).
 24. MENGE, A.C., BEHRMAN, S.J.: Immunologic problems of infertility. *Gynecologic Endocrinology* 3th. Edition. Ed. GOLD, J.J., JOSIMOVICH, J.B., Harper and Row, Philadelphia, 690-707 (1980).
 25. OKUDA, K., MURASE, T., SATO, K., MATSUZAKI, S., IWANO, S., IWAMA, N.: Penetration ability of bull spermatozoa into bovine cervical mucus. *Proc. 11 th. Int. Congr. Anim. Reprod. A. I.*, 3, 279 (1988).
 26. OVERSTREET, J.W.: Evaluation of sperm-cervical mucus interaction. *Fertil. Steril.*, 45, 324-326 (1986).
 27. PANCHAL, M.T., DHOLAKIA, P.M., DERASHRI, H.J., KODAGALI, S.B.: Investigation of immunoinfertility in repeat-breeding buffaloes. *Indian Journal of Animal Sciences*, 60, 1211-1212 (1990).
 28. PANDYA, I.J., MORTIMER, D., SAWERS, R.S.: A standardized approach for evaluating the penetration of human spermatozoa into cervical mucus in vitro. *Fertil. Steril.*, 45, 357-365 (1986).
 29. SESHAGIRI, V.H., PATTABIRAMAN, S.R., KRISHNAN, A.R.: Incidence of sperm agglutinating antibody in regular and repeat breeding cross bred cows. *Cheriron*, 16, 152-154 (1987).
 30. SINHA, D.P., ANDERSON, T.D., HOLBOROW, E.J., NANDAKUMAR, V.C.: Local immunological factors as a possible cause of reduced sperm motility in the cervical mucus of infertile women. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 84, 948-953 (1977).
 31. SOFFER, Y., MARCUS, Z.H., BUKOVSKY, I., CASPI, E.: Immunological factors and post coital test in unexplained infertility. *Int. J. Fertil.*, 21, 89-95 (1976).
 32. WILSON, L.: Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85, 652-655 (1954).
 33. ZAFRACAS, A.M., SAMOUILIDIS, S.C., CRICORION, A.B., KONLER-SAMOUILIDIS, G.: Ein einfacher test zum nachweis von spermeantikörpern in genital-schleim. *Tierärztliche Umschau*, 12, 973-974 (1987).