

Alman Çoban Köpeklerinin Seminal Plazmalarındaki Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Saptanması

Ülgen GÜNAY

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Görükle, Bursa - TÜRKİYE

Ümit POLAT

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Görükle, Bursa - TÜRKİYE

M. Kemal SOYLU

Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Görükle, Bursa - TÜRKİYE

Fikret KİL

Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkez Komutanlığı, Gemlik, Bursa - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 24.05.2002

Özet: Bu çalışmada Alman Çoban Köpeklerinin seminal plazmalarının bileşimindeki bazı biyokimyasal parametrelerin saptanması amaçlanmıştır. Materyal olarak 7 adet Alman Çoban Köpeği (Kurt Köpeği) kullanıldı. Her köpekten 5'er defa olmak üzere toplam 35 ejakulat toplandı. Ejakulatin her biri 5000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek seminal plazmaları ayrıldı. Seminal plazma örneklerinin biyokimyasal analizleri yapıldı. Sonuç olarak toplam protein, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum konsantrasyonlarının ortalama değerleri sırasıyla; $3,75 \pm 0,21$ g/dl, $3,22 \pm 0,32$ mg/dl, $2,49 \pm 0,25$ mg/dl, $4,50 \pm 0,37$ mg/dl, $137,25 \pm 1,98$ mEq/l ve $12,25 \pm 0,69$ mEq/l olarak saptandı.

Anahtar Sözcükler: Köpek, seminal plazma, biyokimyasal parametreler

Determination of Some Biochemical Parameters in the Seminal Plasma of German Shepherd Dogs

Abstract: In this study, we aimed to determine the levels of some biochemical parameters in the seminal plasma of German Shepherd dogs. Seven German Shepherd dogs were used as materials. A total of 35 ejaculates, five from each dog, were collected. The seminal plasma of each ejaculate was separated by centrifugation at 5000 rpm for 10 min. Biochemical analyses of the seminal plasma were performed. In conclusion, the average concentrations of total protein, calcium, phosphorus, magnesium, sodium and potassium were 3.75 ± 0.21 g/dl, 3.22 ± 0.32 mg/dl, 2.49 ± 0.25 mg/dl, 4.50 ± 0.37 mg/dl, 137.25 ± 1.98 mEq/l and 12.25 ± 0.69 mEq/l, respectively.

Key Words: Dog, seminal plasma, biochemical parameters

Giriş

Köpek sperması, ayrılması her zaman kolay olmayan üç fraksiyondan oluşur (1-7). Birinci ve üçüncü fraksiyonların spermanın uzun süreli depolanmasında spermatozoa için zararlı olduğu görülmüştür (8). Bu nedenle, köpek sperması değerlendirilmek istendiğinde spermatozodan zengin olan ikinci fraksiyonun tümünün toplanması ve depolanması önem kazanmaktadır (9).

Köpeklerde fertilitenin değerlendirilmesinde spermatozoa morfolojisi ve aktivitesi yanında spermanın biyokimyasal olarak değerlendirilmesi de büyük önem taşımaktadır. Seminal plazmanın kimyasal bileşiminde

saptanacak bir anormallik, erkek infertilitesinin belirlenmesi açısından seminal plazmanın içeriğinin incelenmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır (10).

Seminal plazmanın bileşimi sperma alma şekline, sıklığına, mevsime, beslenme ve türlere göre farklılık gösterir (1,11,12). Seminal plazmada organik madde konsantrasyonu yüksek olup bu maddelerin miktarı eklenti üreme bezlerinin fonksiyonel durumunu yansıtmaktadır (11). Ayrıca memelilerde seminal plazma içeriğindeki elektrolit (sodyum, potasyum, kalsiyum, fosfor) lipit ve protein düzeyleri değişkenlik gösterir (13-15).

Köpek prostatik salgısı yüksek oranda sodyum ve klor içerir. Köpek spermasında fruktozun yok denecek kadar az olması köpeklerin seminal bezlerden tamamen yoksun olmalarından kaynaklanmaktadır (11,16,17). Köpek prostatından salgılanan proteinler diğer türlerinkinden ve insaninkinden farklıdır (16).

Ejakulatin üç fraksiyonunu biyokimyasal olarak inceleyen England ve Allen (18), fraksiyonlar arasında sodyum, magnezyum ve kalsiyum konsantrasyonları arasında önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmada toplam protein konsantrasyonu ise ikinci fraksiyonda birinci fraksiyondan belirgin bir şekilde yüksek bulunmuş ve bu farkın 2. ve 3. fraksiyonların içerdiği epididimal salgının varlığından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Brooks (11), köpeklerde tüm ejakulattaki toplam protein, kalsiyum ve magnezyum değerlerini sırasıyla 30 mg/ml, 0,85 mmol/l ve 1,1 mmol/l olarak bildirmiştir. Christiansen (19), ikinci fraksiyondan elde ettiği seminal plazma içeriğindeki sodyum, potasyum, magnezyum ve kalsiyum değerlerini ise sırasıyla $122 \pm 1,8$ mEq/l, $12,9 \pm 1,8$ mEq/l, $0,46 \pm 0,26$ mEq/l ve $0,37 \pm 0,07$ mEq/l olarak saptamıştır.

Sunulan çalışmada Alman Çoban Köpeklerinin seminal plazmalarının bileşimindeki bazı biyokimyasal parametrelerin saptanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu araştırmada materyal olarak Gemlik Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkez Komutanlığı Köpek Üretim Merkezinde bulunan 7 adet Alman Çoban Köpeği (Kurt Köpeği) kullanıldı. Sperma köpeklerden iki günde bir penisin masajı yöntemiyle, östrusta olan dişi köpeklerin varlığında toplandı. Spermatozoadan zengin olan ikinci fraksiyon renk ve kıvam değişimleri gözlenerek sperma toplama kadehine alındı. Her köpekten 5'er olmak üzere toplam 35 ejakulat toplandı. Ejakulatin her biri 5000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek seminal plazmaları ayrıldı. Seminal plazmalar daha sonra incelenmek üzere analizleri yapılmıyaya kadar -20 °C'deki derin dondurucuda saklandı.

Seminal plazmadaki toplam protein (Biotrol A01394U), kalsiyum (Bayer-Technicon 32585), fosfor (Biosystems COD 11516), magnezyum (Abbot Aeroset 7D70-01), sodyum (Abbot Aeroset ICT1E48) ve potasyum düzeyleri (Abbot Aeroset ICT 1E49) Technicon DAX 72 otoanalizörde ölçüldü. Sonuçların istatistiksel

değerlendirilmesinde "Tek Yönlü Varyans Analizi" kullanıldı (20).

Bulgular

Araştırmada kullanılan Alman Çoban Köpeklerinin seminal plazmalarının analizi sonucu elde edilen bireysel ve genel ortalama toplam protein, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum değerleri Tablo'da sunulmuştur.

Tartışma

Köpeklerde spermatolojik özellikler yanında seminal plazma içeriğindeki madde konsantrasyonlarının belirlenmesi ve aralarındaki korelasyonların ortaya konması sperma kalitesinin belirlenmesinde yardımcı ve destekleyici bir teknik olarak önem taşımaktadır. Sunulan çalışmada her bir köpekten alınan 5'er ejakulatin seminal plazmalarından elde edilen toplam protein, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum ve potasyum konsantrasyonlarının ortalama değerleri sırasıyla; $3,75 \pm 0,21$ g/dl, $3,22 \pm 0,32$ mg/dl, $2,49 \pm 0,25$ mg/dl, $4,50 \pm 0,37$ mg/dl, $137,25 \pm 1,98$ mEq/l ve $12,25 \pm 0,69$ mEq/l olarak saptanmıştır (Tablo).

Köpekler arasında toplam protein, magnezyum ve potasyum değerleri açısından istatistiksel yönden bir fark bulunamamıştır. Kalsiyum, fosfor ve sodyum değerleri incelendiğinde; kalsiyum değeri için 6 no'lu köpekle 2, 4 ve 5 no'lu köpekler arasında istatistiksel olarak fark saptanmış olup ($P < 0,05$), diğerleri ile arasında fark saptanmamıştır. Fosfor değerinde ise 5 no'lu köpek hariç 7 no'lu köpekle diğerleri arasında istatistiksel önem bulunmuştur ($P < 0,05$). Sodyum değeri incelendiğinde 7 no'lu köpek ile diğer tüm köpekler (1-6) arasında istatistiksel fark saptanmış olup, bu köpeğin 2 ve 5 no'lu köpeklerle arasındaki önem $P < 0,01$, diğerleri (1,3,4 ve 6) ile arasındaki önem ise $P < 0,05$ olarak bulunmuştur (Tablo).

Köpeklerde ikinci fraksiyondan elde edilen seminal plazma içeriği ile ilgili yeterli sayıda literatür verilerine ulaşılamamıştır. England ve Allen (18), 20 ejakulatin ikinci fraksiyonunun seminal plazmalarını haftada bir elde etmişler ve örneklerin biyokimyasal analizi sonucunda toplam proteini 42,5 g/l, kalsiyumu 0,46 mmol/l, magnezyumu 1,12 mmol/l, fosforu 1,34 mmol/l, sodyumu 145 mmol/l, potasyumu ise 10,78 mmol/l olarak

Tablo. 7 Adet Alman Çoban Köpeğinin Seminal Plazmalarında Saptanan Biyokimyasal Parametrelerin Bireysel ve Genel Ortalama Değerleri (n=5).

Köpek No	Toplam Protein (g/dl) x ± Sx	Kalsiyum (mg/dl) x ± Sx	Fosfor (mg/dl) x ± Sx	Magnezyum (mg/dl) x ± Sx	Sodyum (mEq/l) x ± Sx	Potasyum (mEq/l) x ± Sx
1	4,67 ± 0,60	3,68 ± 0,20 ^{ab}	2,32 ± 0,45 ^a	6,40 ± 0,69	135,00 ± 3,08 ^a	15,10 ± 0,79
2	3,55 ± 0,35	2,15 ± 0,75 ^a	2,10 ± 0,30 ^a	3,60 ± 0,10	146,00 ± 2,00 ^a	12,25 ± 1,85
3	3,70 ± 0,40	3,80 ± 0,50 ^{ab}	1,60 ± 0,10 ^a	3,70 ± 0,40	138,50 ± 1,50 ^a	10,10 ± 0,50
4	3,50 ± 0,30	1,85 ± 0,05 ^a	2,00 ± 0,90 ^a	5,00 ± 0,30	137,00 ± 2,00 ^a	12,00 ± 1,70
5	3,36 ± 0,27	2,70 ± 0,05 ^a	2,80 ± 0,37 ^{ab}	3,50 ± 0,20	142,66 ± 4,09 ^a	11,56 ± 0,85
6	3,50 ± 0,30	3,70 ± 1,70 ^b	1,80 ± 0,10 ^a	3,65 ± 1,65	134,00 ± 3,00 ^{ab}	10,15 ± 0,50
7	2,70 ± 0,05	2,40 ± 0,40 ^{ab}	4,85 ± 1,60 ^b	4,00 ± 0,35	118,50 ± 1,50 ^b	13,45 ± 0,80
Genel ortalama	3,75 ± 0,21	3,22 ± 0,32	2,49 ± 0,25	4,50 ± 0,37	137,25 ± 1,98	12,25 ± 0,69

^{ab} Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (P < 0,05).

tespit etmişlerdir. Sunulan araştırmada saptanan değerler England ve Allen (18)'in bulduğu değerlerle karşılaştırıldığında toplam protein değeri biraz düşük olmakla beraber uyumlu, sodyum ve potasyum değerleri benzer, magnezyum ve kalsiyum ise yüksek bulunmuştur. Aynı araştırmacılar tarafından toplam protein konsantrasyonundaki değişimlerin ikinci fraksiyonun içindeki epididimal salgının miktarı tarafından oluşturulabileceği vurgulanmıştır. Nitekim sunulan araştırmada da toplam protein konsantrasyonu en düşük 2,70 ± 0,05 g/dl, en yüksek 4,67 ± 0,60 g/dl olarak tespit edilmiştir. Sunulan araştırma ile England ve Allen (18)'in bulguları arasındaki farklılıklar sperma alma sıklıklarının farklı oluşundan kaynaklanabilir. Spermatozoitlerin epididimisten geçerken seminal plazma içeriğini oluşturan sıvı kısmın emilime uğrayarak sperma yoğunluğunun arttığı ve seminal sıvıdaki bu değişimin de bileşimindeki elektrolit, protein ve enzim düzeylerinde farklılık oluşturduğu bildirilmiştir (12). Bunun sonucunda da bu çalışmada olduğu gibi sık sperma alımlarının yeterince sperma yoğunluğunu sağlamadığı ve bu durumun seminal plazma içerisindeki madde düzeylerinde değişiklikler meydana getirebileceği düşünülebilir. Sunulan araştırmadaki değerler Brooks (11)'un tüm ejakulatta saptadığı değerlerle karşılaştırıldığında toplam protein miktarı benzer, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonu ise yüksek bulunmuştur. Yapılan araştırmada ikinci fraksiyonun, Brooks (11)'un araştırmasında ise tüm ejakulatin değerlendirilmesi sonuçlar arasında büyük olasılıkla farklılık yaratmış olabilir.

Sunulan araştırmadaki sodyum ve kalsiyum konsantrasyonu Christiansen (19)'in belirttiği değerlerden biraz yüksek, magnezyum değeri düşük, potasyum ise uyumlu olarak saptanmıştır. Bulgular arasındaki farklılık araştırmada kullanılan köpek ırklarının değişik oluşundan ve sperma toplama sıklığından kaynaklanmış olabilir. Nitekim çeşitli araştırmacılar seminal plazmanın bileşiminin sperma alma şekline, sıklığına, mevsime, beslenmeye ve ırka göre değişkenlik gösterdiğini vurgulamaktadırlar (1,11,12).

Seminal plazmanın içeriğindeki madde konsantrasyonları ile spermatolojik özellikler arasında bağlantı kuran kimi araştırmacılar (21-23) ise motilite ile sodyum konsantrasyonu arasında pozitif, potasyum ile de negatif bir korelasyon olduğunu ifade etmişlerdir. Bunun yanısıra köpeklerde seminal plazmanın yüksek oranda sodyum içerdiği bildirilmiştir (11,21,22). Köpek seminal plazmasında sodyum konsantrasyonunun potasyumdan çok yüksek olduğu belirtilmiştir (11,17,22). Kimi araştırmacıların (11,17,22) belirttiği gibi sunulan araştırmada da sodyum konsantrasyonu (137,25 ± 1,98 mEq/l) potasyumdan (12,25 ± 0,69 mEq/l) çok daha yüksek bulunmuştur. İnsanlarda yapılan bir araştırmada (24) ise vasktomize edilmiş ve edilmemiş gruplar arasında bile 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. Seminal plazmada saptanan madde miktarlarının eklenti üreme bezlerinin fonksiyonlarını yansıtmakta olduğu (11) ve bu madde

miktarlarında saptanacak farklılıkların fertilité hakkındaki hastalık işaretlerinin ortaya konmasında daha kolay bir tanı yöntemi olabileceği vurgulanmaktadır (10).

Sonuç olarak, sunulan araştırmada seminal plazmadaki madde konsantrasyonları normal sınırlar

içerisinde bulunmuştur. Ülkemizde köpeklerdeki seminal plazma içeriğini inceleyen bir araştırmaya rastlanmamış olup, sunulan araştırmanın farklı ırklarda da bu yönde yapılacak olan diğér araştırmalara katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. England, G.C.W., Allen, W.E.: The lack of effect of parvovirus vaccination on the seminal characteristics of dogs, *Vet. Res.*, 1991; 128: 611-612.
2. Linde-Forsberg, C.: Artificial insemination in the dog, *W.S.A.V.A. XIXth World Congress*, Durban, 1994; 606-611.
3. Schubert, C.L., Seager, S.W.J.: Semen collection and evaluation for the assesment of fertility parameters in the male Dalmatian, *Canine Prac.*, 1991; 16: 17-21.
4. Shille, V.M.: Clinical examination for reproductive disorders in the dog, *Current Therapy in Theriogenology*, Ed. Morrow, D.A., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1980; 579-583.
5. Andersen, K.: Artificial insemination and storage of canine semen, *Current Therapy in Theriogenology*, Ed. Morrow, D.A. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1980; 661-663.
6. Shille, V.M., Stabenfeldt, G.H.: Clinical reproductive physiology in dogs, *Current Therapy in Theriogenology*, Ed. Morrow, D.A., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1980; 571-574.
7. Günzel-Apel, A.R., Schnee, C., Krause, D.: Investigations on retrograde ejaculation in the dog, *11th Int. Congr. on Anim. Reprod. and Artif. Insem.*, Dublin, 1988; 557-558.
8. Linde-Forsberg, C.: Artificial insemination with fresh, chilled extended and frozen-thawed semen in the dog, *Sem. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)*, 1995; 10: 48-58.
9. Feldman, E.C., Nelson, R.W.: Disorders of canine male reproductive tract, *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, Ed. Feldman, E.C., Nelson, R.W., W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1987; 481-524.
10. Aydın, S., Yılmaz, Y., Odabaşı, Ö., Şekeroğlu, R., Tarakçioğlu, M., Atilla, M.K.: A further study of seminal plasma: Lactate dehydrogenase and lactate dehydrogenase-x activities and diluted semen absorbances, *Eur. J. Chem. Clin. Biochem.*, 1997; 35: 261-264.
11. Brooks, D.E.: Biochemistry of the male accessory glands, *Marshall's Physiology of Reproduction*, Churchill Livingstone, 4th Ed., 1990; 569-690.
12. Pineda, M.H.: Male Reproduction, *Veterinary Endocrinology and Reproduction*, Ed. L.E. McDonald, 4th Ed., Lea & Febiger 1989; 261-302.
13. Garner, D.L., Hafez, E.S.E.: Spermatozoa and seminal plasma, *Reproduction in Farm Animals*, Lea & Febiger, 6th Ed., 1993; 165-187.
14. Mann, T., Lutwak Mann, C.: Male Reproduction, Function and Semen, Springer-Verlag, 1981; 286-285.
15. Reece, W.O.: Physiology of Domestic Animals, Lea & Febiger, 1991; 266-285.
16. Dube, J.Y., Frenette, G., Chapdelaine, P., Raquin, R., Tremblay, R.R.: Biochemical characteristics of the proteins secreted by dog prostate, *Exp. Biol.*, 1985; 43: 149-159.
17. Concannon, W.P.: Reproduction in Dog and Cat, *Reproduction in Domestic Animals*, Ed. P.Cupps, 4th Ed, 1991; 518-550.
18. England, G.C.W., Allen, W.E.: An investigation into the origin of the first fraction of the canine ejaculate, *Res. Vet. Sci.*, 1990; 49: 66-70.
19. Christiansen, I.B.J.: Reproduction in The Dog and Cat, 1st Ed., Bailliere Tindall, 1984; 81-103.
20. Sömbüloğlu, K., Sömbüloğlu, V.: Biyoistatistik, Özdemir Yayıncılık, 5. Baskı, 1994; 2-106.
21. Frenette, G., Dube, J.Y., Tremblay, R.R.: Origin of alkaline phosphatase of canine seminal plasma, *Arch. Androl.*, 1986; 16: 235-241.
22. James, R.W., Heywood, R., Street, A.E.: Biochemical observations on Beagle dog semen, *Vet. Rec.*, 1979; 104: 480-482.
23. Gusani, P.H., Skandhan, K.P., Valsa, C., Menta, Y.D.: Sodium and potassium in normal and pathological seminal plasma, *Acta Eur. Fertil.*, 1992; 23: 39-42.
24. Jimenez Verdejo, A., Carillo de Albornoz, E.O., Luna Maldonado, A., Jime Verdejo, J., Zuluaga Gomez, A.: Comparative study of determined biochemical parameters in vasectomized and non-vasectomized subjects, *Arch. Esp. Urol.*, 1998; 51: 811-817.