

38120



T. C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Reprodüksiyon ve Sun'î Tohumlama Anabilim Dalı

DÖL TUTMAYAN İNEK VE DÜVELERDE  
PENETRASYON TESTİ'NİN KULLANIM OLANAKLARI

( DOKTORA TEZİ )

ARAŞTIRMA GÖREVLİSİ

İBRAHİM DOĞAN

Danışman : Prof. Dr. HAZIM GÖKÇEN

BURSA 1994

T.C. YENİLENEBİLİR KAYITLI  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

## TEŐEKKÜR

Gerek doktora eğitimim süresinde gerekse tez çalıőmalarım esnasında değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışman hocam Sayın Prof.Dr. Hazım GÖKÇEN'e, ayrıca çalıőmalarım sırasında ilgisini ve desteğini esirgemeyen hocalarım Sayın Doç.Dr.M. Kemal SOYLU ve Yard.Doç.Dr. Hüseyin TÜMEN'e saygı ve minnettarlığımı arz ederim.

Araştırma materyalinin temininde yardımlarını gördüğüm Karacabey Tarım İőletmeleri Müdürlüğüne de en içten teőekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
ÖZET	1
SUMMARY	3
GİRİŞ	5
GEREÇ VE YÖNTEM	17
BULGULAR	20
TARTIŞMA VE SONUÇ	27
KAYNAKLAR	39

## ÖZET

Karacabey Tarım İşletmesinde yürütülen bu çalışmada, Servikal Mukus Penetrasyon Testi uygulanan döl tutmayan (Repeat Breeder) inek ve düvelerin, servikal mukus ile kan serum örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu (spermatozoon kümelenmeleri) saptanması ve anılan olgunun spermatozoon motilite ve migrasyon değerleri üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlandı.

Aynı boğanın dondurulmuş spermasıyla en az üç kez tohumlandığı halde gebe kalmayan 23' ü siyah beyaz alaca, 27' si esmer ırkı olmak üzere toplam 50 adet inek ve düve araştırmanın materyalini oluşturdu. Materyal olarak ayrılan inek ve düvelerin tohumlanmasında daha önce kullanılan dondurulmuş boğa sperması deneme grubu, daha önce tohumlamada hiç kullanılmamış dondurulmuş boğa sperması ise kontrol grubu olarak değerlendirildi.

Döl tutmayan elli inekten alınan servikal mukus örneğinde deneme grubuyla yapılan test sonunda aglutinasyon reaksiyonu dokuzunda pozitif bulundu ve bunlarda ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla % 7.2 ve 1.85 cm. olarak saptandı. Oysa kontrol grubuna ait sperma ile yapılan test sonunda aynı örneklerde aglutinasyon reaksiyonu görülmedi ve ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla % 8.8 ve 3.61 cm.olarak tespit edildi.

Buna karşın deneme boğalarının spermaları ile yapılan testte aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet materyalin servikal mukuslarında ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla % 8.04 ve 3.31 cm. olarak bulundu. Ayrıca kontrol grubuna ait sperma ile yapılan test sonunda aynı örneklerde aglutinasyon reaksiyonu görülmedi ve ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla % 11.34 ve 3.72 cm. olarak tespit edildi.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu saptanan materyalin kan serum örneklerinde deneme grubu spermaları ile yapılan aglutinasyon reaksiyonunun derecesi 1' inde kuvvetli, 2' sinde orta, 6' sında normal, ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla % 31.1 ve 0.51 cm; kontrol grubuyla ise aglutinasyon derecesi 1' inde kuvvetli, 2' sinde orta, 6' sında normal, ortalama motilite ve migrasyon oranları sırasıyla % 27.7 ve 0.46 cm. olarak saptandı.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu saptanamayan 41 adet inek ve düvenin kan serum örneklerinde aglutinasyon reaksiyonunun derecesi deneme grubuyla 7' sinde kuvvetli, 14' ünde orta, 20' sinde normal, ortalama motilite ve migrasyon değerleri sırasıyla % 22.07 ve 0.63 cm.; kontrol grubuyla ise aglutinasyon derecesi 8 'inde kuvvetli, 18' inde orta, 15' inde normal, ortalama motilite ve migrasyon oranları sırasıyla % 20.85 ve 0.69 cm. olarak bulundu.

Anahtar sözcükler: Kan serumu, servikal mukus, Servikal Mukus Penetrasyon Testi, sperma, boğa.

## **SUMMARY**

### **THE USING POSSIBILITIES OF PENETRATION TEST IN REPEAT-BREEDER COWS AND HEIFERS**

This trial was carried out at the Karacabey Stud Farm to detect the agglutination reaction in the cervical mucus and the sera of repeat breeder cows and heifers and to determine the effects of this agglutination reaction on the spermatozoon motility and migration rates.

Total of 50 cows and heifer, 23 of them were Black Pied and the rest were Brown Swiss, were used as material in this trial. Although they were insaminated at least three times with the frozen semen of the same bull, they were not conceived. Frozen bull semen used for the insemination of the cows and heifers formerly was referred as test and frozen bull semen wasn't used before was referred as control.

As a result of agglutination test of the test group, 9 of 50 mucus samples collected from repeat breeder cows, were found positive; average motility and migration rates were determined as 7.2 % and 1.85 cm. respectively. The agglutination test of controls were negative; average motility and migration rates were 8.8 % and 3.61 cm. respectively.

Motility and migration values in the cervical mucus of 41 materials, of which agglutination reaction with the semen of test bulls was negative, were found as 8.04 % and 3.31 cm. respectively. Also, there were no agglutination reaction in the same samples in which test was made with semen of control group and average motility and migration values were found as 11.34 % and 3.72 cm. respectively. Degree of agglutination reaction, with the spermatozoa of test group, in sera samples of two material, of which agglutination reaction in the cervical mucus was positive, was found as severe, mild and normal in the 1, 2 and 6 cows, motility and migration values were 31.1 % and 0.51 cm. respectively.

Degree of agglutination of the control group was severe in the 1, mild in the 2 and normal in the 6 cows; motility and migration values were 27.7 % and 0.46 cm. respectively.

As a result, degree of agglutination reaction with test group were found as severe in the 7, mild in the 14 and normal in the 20 cows of which cervical mucus was negative for agglutination reaction and motility and migration rates of them were 22.07 % and 0.63 cm. Degree of agglutination reaction with controls was severe in 8, mild in 18 and normal in 15; average motility and migration rates were 20.85 % and 0.69 cm. respectively.

**Key words:** Blood sera, cervical mucus, Cervical Mucus Penetration Test, semen, bull.

## GİRİŞ

Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi süt sığırı yetiştiriciliğinde de en önemli verim dölverimidir (1, 2). Ekonomik değer taşıyan et, süt gibi hayvansal ürünler dölverimi sayesinde süreklilik gösterebilir. Bir süt sığırı işletmesinde her inekten yılda bir yavru elde edilmesi maksimum süt üretiminin devam ettirilmesi açısından büyük önem taşır. Bunu gerçekleştiremeyen işletmelerin, sadece süt verimi ile kazanç sağlamaları düşünülemeyeceği gibi, sürüdeki dişi damızlık hayvan ihtiyacı da sayısal olarak korunamaz.

Bugün ciddi olarak fertilitite kontrol programları uygulayan süt işletmelerinde temel hedef, infertilititeye neden olan problemlerin ortadan kaldırılmasıdır. Ancak bu hedefe ulaşmaya imkan sağlayan biyoteknoloji alanındaki gelişmelere paralel olarak, verimi yükselen hayvanlarda infertilititeye karşı yatkınlık da oluşmaktadır (1).

Bu gelişmeler karşısında dölverimini etkileyen çevresel ve genetik faktörlerin sayısal miktarı ve çeşitliliği gün geçtikçe artmaktadır. Bu konuda çok yoğun ve çeşitli bilimsel araştırmalar yapılagelmiş olmasına rağmen, uygun ve hijyenik koşullarda barındırılan ve fertilitite kontrol programları uygulayan süt sığırı işletmelerinde bile infertilitite olgusu görülmektedir. Bunların en başında döl



tutmayan (Repeat Breeder) inekler gelmektedir. Bu olgu, klinik olarak genital organlarında bir bozukluğu bulunmayan, östrus siklusları düzenli, anormal akıntısı olmayan ve fertil bir boğa/ sperma ile en az üç kez aşım/ tohumlama yapıldığı halde gebelik elde edilemeyen ineklerde görülür (1, 2, 3, 4).

Döl tutmayan ineklerin klinik tanısı oldukça kolay olmasına karşın, etyolojisi ve fizyopatolojisi henüz gereken ölçüde aydınlığa kavuşturulamamıştır. Yaptıkları çalışmalarda süt sığırcılığında döl tutmayan ineklerin oranını Özkoca (1), % 15.0-20.0, Deveci (2) 10.0-18.0, Dinç (3), % 8.0-13.0 ve Alaçam (4), % 10.2-18.0 olarak bildirmektedirler. Reprodüktif bakımdan bu hayvanlarda gebeliğin oluşturulması ya imkansızdır ya da çok sayıda tohumlamaya ihtiyaç gösterir (1). Bu olgu iki doğum arasındaki sürenin uzamasına bağlı olarak süt üretiminin azalmasına neden olmak suretiyle süt sığırcılığı yapan işletmelerde para ve zaman kaybına neden olmaktadır (5, 6).

İnfertilite konusunda yanıt bulunamamış sorunlardan birisi de antisperma antikorlarının infertilite olgusu üzerindeki etki derecesidir (7, 8). Spermanın antijenik bir yapı olduğu 20. yüzyılın başında bulunmuş olmasına karşın (8, 9, 10), fertilite üzerindeki baskılayıcı etkisi bu yüzyılın ortasında anlaşılmıştır (11). 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 getirmiştir (12). Alexander (13), immunolojik faktörlerin infertilite üzerindeki etyolojik payının, diğer infertilite etkenleri göz önünde tutulduğunda çok küçük olduğunu öne sürmüştür. Barlow (14) ise, infertilite olgusu-

nun antisperma antikorlarından kaynaklandığını ileri sürmeden önce, infertiliteye neden olan diğer faktörlerin mutlaka elimine edilmesi gerektiğini bildirmektedir. Bronson ve arkadaşları da (8), antisperma antikorlarının steriliteden çok subfertiliteye neden olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Canlı organizmanın diğer antijenlere karşı olduğu gibi, sperma antijenlerine karşı da immun tepkisinin olduğu ve bu tepkinin humoral ve hücrel olarak veya genital kanalda lokal tepki şeklinde ortaya çıktığı da ifade edilmiştir (12, 15). Bu olgunun temelinde immun sistemde görev alan T ve B lenfositlerin, kemik iliği ve az oranda dalakta yapıldıktan sonra diğer dokulara giderek olgunlaştıkları ve antijenik uyarıma karşı tepki yeteneği kazanmalarının yattığı belirtilmiştir (12, 15, 16).

Humoral immunité B lenfosit sekresyonuyla karakterizedir. Sperma antijenlerine karşı oluşan immunoglobulinler, IgG, IgA, IgM ve bazı durumlarda IgE grubuna ait antikorlardır (12, 16). İmmunojenik kuşatma ve immunizasyonun şiddetine bağılı olarak, bir bireyde sistemik ya da lokal immunitenin biri ya da her ikisi meydana gelebilir (12, 15, 16). Humoral immunité kadınların genital sistemine sperma antijenlerinin verilmesiyle deneysel olarak da oluşturulmuştur. Erkeklerde ise humoral immunité nadir olarak meydana gelir.

Hücrel immunité T lenfosit sekresyonuyla karakterizedir ve kendini gecikmiş hipersensitif reaksiyon olarak gösterir. T lenfositler sensitize edilen spesifik antijen ile temasa geçtiğı zaman lenfokinaz denilen maddeyi serbest bırakırlar. Adı geçen maddenin spesifik fonksiyonları yanı sıra makrofaj aktivitesini de uyarırlar (12, 16). İnsanlarda görülen kabakulak hastalığına bağılı orşitis-

te, testis dejenerasyonuna hücreyel immun tepkinin neden olabileceği ileri sürülmektedir (12).

Genital sistem sekresyonlarında saptanan izoantikörlerin, kan serumunda bulunmaması, kimi immunolojik infertilite olgularından lokal immun tepkinin sorumlu olduğunu göstermektedir. Nitekim Sudo ve arkadaşları (17), servikal mukusunda antisperma antikoru bulunan 12 kadının yalnız 9' unun kan serumunda izoantikör bulunduğunu saptamışlardır. Hotta ve arkadaşlarının (18), servikal mukusunda sperma antikörleri bulunan repeat breeder ineklerin kan serumları üzerinde yaptıkları araştırmalar da benzer sonuç vermiştir. Deneysel olarak yapılan bir çalışmada (19), serviksleri bir saf protein ile immunize edilen düvelerin servikal mukuslarında saptanan proteinin neden olduğu antikorun kan serumlarında bulunmadığı görülmüştür. Alexander (20) ise, serumda bulunan antikörlerin, seminal plazma ile servikal mukus ya da uterus sıvılarında bulunan oto-izoantikörlerinin, immunoglobulin sınıfını ya da miktarını tam olarak vermediğini bildirmektedir. Bunun yanısıra dişilerin genital sisteminde lokal immun tepkinin sadece sperma antijenlerine karşı oluşmadığı bakteri, mantar, virus (21) ve sperma sulandırıcısı olarak kullanılan yağsız süt ve yumurta sarısına karşı da immun tepkinin oluştuğu bilinmektedir (21, 22, 23).

Dişilerde lokal immun tepkiye bağlı olarak salgılanan, lokal antikörler IgA ve IgG sınıfındaki immunoglobulinlerdir. Patolojik durumlarda ise IgM grubuna ait immunoglobulinler salgılanır (12, 16, 24). Serviks, dişinin genital sisteminde immun aktivitenin en fazla görülen bölgesidir. Endometrium ve ovidukta anılan etki sınırlı derecede görülürken vagina ise atıldır (25). Servikste sentezlenen en önemli immunoglobulin, 11S türüne ait IgA' dır (24, 26). Se-

rumda bulunan IgA antikor titresi, seminal plazma ya da servikal mukusta bulunan IgA titresini tam yansıtmaz. Seminal plazmada bulunan IgA ve IgG' nin titre düzeyleri, kan serumunda bulunan titrenin yaklaşık % 0.1' idir (20).

Sperma testis, epididimis, eklenti bezleri ve ejakülasyon kanalından köken alan bir antijen kompleksi olmakla birlikte (7, 12, 13, 14, 27), bu antijenlerin hepsi fertilitenin azalmasına neden olmaz (27). Bu genital yapılar sperma antijenlerinin farklı nicelik ve nitelik kazanmasına neden olur. Seminal plazmada pekçok antijen bulunur ve bu antijenlerin birçoğu diğer dokulara karşı özeldir. Fakat spermatozoonların yüzey antijenleri, seminal plazmada bulunan antijenlerden çok daha önemlidir (25). Spermatozoon farklı biyokimyasal ve immunolojik substantlardan oluşur ve dişi genital sisteminde spermatozoonun her bir parçası yabancı madde özelliği gösterir (28). Spermatozoonun plazma membranı bir antijenik mozaiktir. Bir spermatozoonda en az yedi farklı antijenik bölge bulunur. Bu bölgeler; akrozom, akzoromun kenarı, postakrozomal bölge, ekvatoryal kısım, boyun, ana kuyruk ve kuyruk ucudur. Ayrıca bu antijenler türlere göre spesifik olduğu gibi (13, 29), reproduksiyon üzerindeki etkileri de farklıdır (7).

Spermatozoonlarda bulunan spesifik antijenlerin spermiositogenezis evresi süresince sentezlendiği bildirilmiştir (12). Epididimis ve ejakülasyon kanallarından geçen spermatozoonun plazma membranı genital ve eklenti bezlerinin salgılarında bulunan antijenler tarafından da kaplanır (12, 20, 27). Örneğin insanlarda bulunan A, B ve O kan grup antijenleri, erkeklerin seminal plazma sekresyonunda bulunur ve ejakülasyonla spermatozoonların plazma membranı-

na bağlanır (12).

Bazı seminal plazma bileşikleri ile spermatozoonlar erkeklerde immun sistemin gelişmesinden ve immun toleransın oluşumundan sonraki dönemde oluştuklarından dolayı, vücut için yabancı antijen özelliği taşırlar (7, 12, 13, 16). İmmun sistem, diğer yabancı antijenlere tepki gösterdiği gibi spermatozoon ve seminal plazma antijenlerine de aynı immun tepkiyi gösterir (15). Bu yüzden, sperma üretim anından ejakülasyona kadar hem kan-testis, hem de epididimis bariyeri sayesinde immun sistemden ayrı tutulmaktadır (9, 12, 13, 14). Kan-testis bariyeri, tubulus seminiferusların lumeni ile dolaşım sistemi arasında immun hücrelerin, antikorların ve antijenlerin geçişini engeller (12). Belirli koşullar altında (travma, vazektomi, tubal obstruksiyon, yangı vs.) erkeklerde sperma antijenlerinin absorpsiyonunun meydana gelmesi halinde otoimmunizasyonun oluşması beklenebilir (12, 13, 14, 25, 30, 31, 32). Sperma antijenlerine karşı oluşan otoantikorlar infertil erkek (11, 33) ve kimi boğaların (34, 35, 36, 37) kan serumu ile seminal plazmalarında çeşitli serolojik testlerle ortaya konmuştur. Nitekim Alexander (38), seminal plazmada otoantikor bulunduğunda fertilité oranının azaldığını bildirmektedir. Jones (25) ise, IgG ve IgA sınıfındaki antikorların seminal plazmada görülebilmesi için kan serumunda yüksek titrede bulunması gerektiğini saptamıştır.

Genel olarak kan-testis bariyerinin bozulmasına neden olan faktörlerden sonra da spermatogenezisin devam etmesine bağlı olarak üretimi devam eden sperma antijenlerinin büyük miktarda tubuluslardan lenfatik sisteme geçmesinin otoantikorların oluşmasına, dolayısıyla otoimmunizasyonun meydana gel-

mesine neden olacağı ileri sürülmüştür (13, 31). Bu antikörlerin daha sonra genel dolaşıma, oradan da epididimise ya da cinsel bezlerden seminal plazmaya geçmeleri ve ejakülasyon sırasında spermatozoonların kümeleşmesine (aglutinasyon) yol açmaları olası görülmektedir (20, 31).

Otoantikörlerin spermatozoonların morfolojik özelliklerini değiştirmediği (31), ancak spermatozoonların dölleme yeteneklerini ortadan kaldırarak ya da spermatogenezisi etkileyerek oligo veya azospermiye neden oldukları ileri sürülmektedir (7, 9, 12, 31, 39).

Sperma ve testis ekstrelerinin dişilerde iki şekilde dölverimi dūřüklüęüne neden olduğu üzerinde durulmaktadır. Bunlardan birincisi testis ve sperma ekstrelerinin deneysel olarak verilmesiyle dişilerde oluşturulan aktif bağışıklığın dişilerde dölverimi dūřüklüęüne neden olup olmadığı yönündedir. Kiddy ve arkadaşları (40) tarafından, homolog antisperma antikörleri iğeren serum ile karıştırılan sperma sun'ı tohumlamada kullanılmış ve düvelerin gebe kalmadıkları görülmüştür. Bu konu ile ilgili yaptığı bir araştırmada McLaren (41), sıçanlara yedi hafta süre ile haftada üç intraperitoneal enjeksiyon yapmak suretiyle uzun süreli bir bağışıklık sağlandığında, dölleme yeteneğinin azaldığını bildirmiştir. Adı geğen araştırıcı bu durumu spermatozoonların fertilizasyon bölgesine erişememesi ile açıklamaktadır. Menge (15), sperma ve testis materyali ile izoimmunize edilen ineklerin kan serumu, uterus ve vaginal sekresyonlarında bulunan izoantikörlerin infertiliteye neden olduğunu bildirmektedir. Aynı araştırıcı başka bir ęalıřmasında (42), sperma ve embriyonik ekstrelerle deneysel olarak izoimmunize edilen düvelerin reproduktif kanalda bulunan izo-

antikorların yalnızca fertilizasyon engellemesi dışında, embriyo üzerindeki embriyotoksik etkisiyle de fertilite oranının azaldığı sonucuna varmıştır.

Bu alanda ileri sürülen ikinci görüş ise, tohumlama veya çiftleşmeden sonra dişinin genital kanalında kalan spermanın absorbe edilerek izoantikor oluşumunu, daha sonra da izoimmun tepkiye neden olup olmayacağı şeklindedir (31). Deneysel olarak izoimmunizasyonun oluşturulması, anılan olgunun doğal olarak da meydana gelebileceğini akla getirmektedir (25, 31). Mayer ve arkadaşları (28), çiftleşmeden sonra dişinin genital organında bulunan spermatozoonların vagina ve serviks içerisinde makrofajlarca fagositoza uğradığını ve spermatozoonların parçalanmasından sonra bu parçaların lökositler tarafından ortadan kaldırıldığını saptamışlardır. Jones (25) ise, bu fagositozun makrofajlar kadar servikste bulunan somatik hücreler tarafından da yapılmakta olduğunu ve nötrofil ile makrofajların kemotaksik olarak spermatozoonlar tarafından çekildiklerini bildirmektedir. Adı geçen araştırmacıların bulgularına ilaveten Behrman (31), spermatozoonlara ait parçaları vagina ve uterus epitelinde belirlediğini bildirmektedir. Ayrıca dişinin genital sisteminde absorpsiyonunun yalnızca spermatozoonlara karşı oluşmadığını, aynı zamanda sperma içerisinde bulunan polisakkarid, müsin ve çeşitli enzimlere karşı da oluştuğunu bildirmektedir. Dişinin genital sisteminde spermanın absorpsiyonu olağan bir olay kabul edildiğinden (28, 31), bu sperma absorpsiyonunun dişilerde izoantikor oluşumuna yol açıp açmadığı McLaren (41) tarafından araştırılmıştır. Araştırmacı bu amaçla ovidukları bağlanmış olan dişi fareleri altı ay süre ile fertil olan erkek farelerle çiftleştirmiş ve bu süre sonunda dişi farelerin serumlarında antikor oluşma-

dığını görmüştür.

Diğer taraftan, sperma ve antijen kompleksi ile deneysel olarak immun duruma getirilen dişi tavşanların serumlarında izoantikör oluşumu Behrman ve Nakayama tarafından saptanmıştır (43). Adı geçen araştırmacılar, tavşanların kan serumunda bulunan antikör titresinin en yüksek bulunduğu zaman yapılan çiftleştirmelerde dişilerin gebe kalmadıklarını, antikör titresinin eşik seviyenin altına düştüğü zaman yapılan çiftleştirmelerde dahi, kan serumundaki antikör titresinde yükselme olmasına karşın, tavşanların yine gebe kalmadıklarını bildirmektedirler. Bununla birlikte kan serumundaki antikör titre değeri tayin edilemeyecek derecede azaldığı zaman yapılan çiftleştirmelerde gebeliğin oluştuğunu saptamışlardır.

Doğal yolla ortaya çıkan izoimmun tepkinin oluşumuna neden olan faktörler tamamen belirlenememiştir (20, 44). Ancak çeşitli faktörlerin dişilerde spermaya karşı izoimmun tepkinin oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Genital sistemde sperma antijenlerinin dışında bulunan kimi antijenik ajanlar da bir immun tepkinin oluşmasına predispoze durum oluşturabilirler. Nitekim, ürogenital organlarında yangı bulunan kadınların, spermaya karşı immun tepki oluşumuna daha fazla duyarlı oldukları kimi araştırmacılar tarafından gözlenmiştir (13, 25, 44). Sarkar (45), ürogenital sistemde lokal olarak oluşan bazı bakteriyel yangıların spermatozoonlarla çapraz reaksiyona giren antikör oluşumuna neden olmasını, bazı bakterilerde spermatozoonlarda görülen yüzey karbonhidrat antijenlerinin bulunmasına bağlanmıştır. Menge ve Behrman (12) ise, reproduktif kanalda oluşan lokal değişikliklerin seminal plazmada bulunan



immunosupressif faktörlerin etkisini ortadan kaldırmak suretiyle izoimmun tepkinin oluşumuna neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca sperma sulandırıcısı olarak kullanılan yumurta sarısı ve yağsız süte karşı reproduktif kanalda lokal olarak üretilen antikorların spermatozoonlarla çapraz reaksiyona girerek, ineklerde dölverimi oranını etkiledikleri birçok araştırmada ifade edilmiştir (9, 21, 22, 23, 29).

Dişilerde spermaya karşı izoimmun tepkinin oluşumunu çeşitli faktörlerin engellediği düşünülmektedir (7, 12). Bu olgunun doğası gerektiği ölçüde aydınlığa kavuşturulamamış olmasına karşın, spermada ve dişinin genital sisteminde bulunan kimi faktörlerin anılan durum üzerinde rol oynadığı ileri sürülmektedir(7, 13, 44). Alexander ve Anderson (46), bu olguyu dişilerin immun sisteminin sperma antijenlerine düzenli olarak tepki göstermesine bağlamaktadırlar. Menge ve Behrman (12) ise, çiftleşmeden sonra dişinin genital sistemi içinde geri kalan seminal plazma ve spermatozoonların bir çoğunun, bir immun tepki gelişmeden önce makrofaj ve nötrofiller tarafından fagosite edildiğini ileri sürmektedirler. Mayer ve arkadaşları (28), genital sistemde nötrofillerin az bulunması, motilite ve fagositoz için gerekli biyokimyasal değişikliğin spermatozoon yüzeyinde olmayışının fagositozu etkileyen faktörler olarak bildirmektedirler. Ayrıca spermanın immunosupressif özelliğinin, spermaya karşı dişilerde izoimmunizasyon olasılığını azaltan bir etken olduğu Beer ve Neaves tarafından ileri sürülmüştür (24). Nitekim, erkeklerin seminal plazmasında (13, 25, 46), farelerin ise epididimal spermasında (8) immunosupressif faktörlerin bulunduğu bildirilmektedir. Alexander ve Anderson (46), yıkanmış spermayla

yapılan intrauterin tohumlamanın izoimmun tepkinin oluşmasına neden olabileceğini, bu durumun seminal plazmaya oranla spermatozoonların çok daha antijenik olmasından kaynaklandığı görüşünde olduklarını bildirmektedirler.

Ürogenital kanalda spermaya karşı lokal olarak oluşan izoantikolar, spermatozoonların fonksiyonları üzerinde farklı etkilere sahiptirler. Bunların arasında spermatozoon motilitesinde azalma, migrasyonun engellenmesi ve aglutinasyon gibi faktörler sayılmaktadır (9, 20, 32, 46, 47). Bu yüzden sperma ile servikal mukus arasındaki etkileşimin klinik olarak incelenmesi, infertilite olguları üzerinde antisperma antikolarlarının etkili olup olmadığının anlaşılmasında yararlı olabileceği ileri sürülmüştür (25, 46, 48, 49). Bu amaçla basit postkoital test (48) ile sperm-mukus penetrasyonu (50) ve sperm-mukus kontaktına (51) ilişkin testler kullanılmaktadır. Servikal mukus penetrasyon testi ve bu güne kadar pekçok araştırmacı tarafından basit, pratik ve güvenilir olması nedeniyle kimi olguların muayenesinde kullanılmıştır (38, 49, 52, 53, 54). Zafracas ve arkadaşları (52), elli adet repeat breeder ineğinin servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonunu 33' ünde ( % 66) pozitif, 17' sinde ( %34) ise negatif olarak oluştuğunu bildirmektedirler. Diğer bir çalışmada penetrasyon testi uygulanan 94' ü servikal mukus, 54' ü kan serum örneklerinde sırasıyla negatiften zayıfa, zayıftan kuvvetliye kadar değişen oranlarda aglutinasyon reaksiyonunun oluştuğu Matousek ve arkadaşları (54) tarafından saptanmıştır.

Dişilerin genital kanalında, özellikle servikal mukusta bulunan antisperma antikolarlarının spermatozoonların fertilizasyon bölgesine doğru migrasyonunu engellemek yoluyla, fertilite oranının düşmesine neden olduğu çeşitli araştı-

ricılar tarafından öne sürülmektedir (7, 9, 17, 53). Yeterli ve yetersiz migrasyon parametresi saptanan insanlar arasında gebelik oranını karşılaştıran Alexander (38), anılan parametre değerinin yüksek olduğu bireylerde gebelik oranının da yüksek olduğunu ifade etmiştir. Dondurulmuş boğa sperması kullanarak oda ısısında yaptıkları *in vitro* denemede Matousek ve arkadaşları (54), kan serumu ve servikal mukusa ait migrasyon parametrelerini  $33 \pm 14$  mm. ile  $14 \pm 11$  mm. olarak saptamışlardır. Galli ve arkadaşları (55), dondurulmuş boğa sperması kullandıkları servikal mukus penetrasyon testinde migrasyon parametresini  $37\text{ C}^\circ$  ve  $21\text{ C}^\circ$ 'de sırasıyla  $28.5 \pm 15.1$  mm. ve  $18.1 \pm 12.6$  mm. olarak bulmuşlardır. Lorton ve arkadaşları (56) ise, iki ayrı düveden topladıkları servikal mukus ile aynı boğanın dondurulmuş spermasını kullanarak  $37\text{ C}^\circ$  'de 15 dk. süreyle yaptıkları penetrasyon testine ait migrasyon parametrelerini sırasıyla  $33.2 \pm 1.6$  mm. ve  $41.6 \pm 2.2$  mm. olarak belirlemişlerdir. Dondurulmuş boğa sperması kullanarak oda ısısında yaptıkları *in vitro* penetrasyon testinde Matousek ve arkadaşları (54), kan serumu ve servikal mukusa ait motilite değerlerini sırasıyla % 10-40 ile % 0.0-30 olarak saptamışlardır.

Karacabey Tarım İşletmesinde yürütülen bu çalışmada, Servikal Mukus Penetrasyon Testi uygulanan kimi repeat breeder inek ve düvelerin servikal mukus ile kan serum örneklerinde, aglutinasyon reaksiyonunun saptanması ve anılan olgunun motilite ve migrasyon değerleri üzerine olan etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma, Karacabey Tarım İşletmesinde yetiştirilen 23' ü siyah-beyaz alaca, 27' si esmer ırk olmak üzere toplam 50 adet döl tutmayan (Repeat Breeder) inek ve düve üzerinde yapıldı. Kullanılan materyal, en az üç kez aynı boğanın dondurulmuş spermasıyla tohumlandığı halde gebe kalmayan ve repeat breeder tanımına uyan inek ve düveler arasından seçildi.

Araştırmaya dahil olan her materyalden 2 ml. servikal mukus ve 10 ml. kan örneği toplandı. Mukus örnekleri, spontan östrus gösteren repeat breeder hayvanların orifisium uteri eksternalarından bir kateter yardımıyla temiz bir enjektöre çekilmek suretiyle toplandı. Mukusa idrar, dışkı ve kanın karışmamasına dikkat edildi. Kan örnekleri, vena jugularisden alındıktan hemen sonra santrifüje edildi ve serumları ayrıldı.

Çalışmada kullanılan her mukus ve serum örneği için, biri deneme diğeri kontrol olmak üzere iki ayrı boğanın dondurulmuş sperması kullanıldı. Payetle-  
rin çözdürülmesi bilinen rutin yöntemine uygun olarak (34 C°de 15 saniyede) yapıldı. Araştırma materyali olarak ayrılan inek ve düvelerin tohumlanmasında daha önce kullanılan boğa sperması deneme grubu, tohumlamada hiç kullanılmamış boğa sperması ise kontrol grubu olarak kabul edildi.

### **Servikal Mukus Penetrasyon Testi (SMPT):**

Çalışmada metod olarak kullanılan Servikal Mukus Penetrasyon Testi, Alexander (38) ile Matousek ve arkadaşları (54), tarafından bildirilen test metoduna temelde bağlı kalınarak yapıldı. Penetrasyon testine tabi tutulan her bir servikal mukus örneği için 75 mm. uzunluğunda ve 1.5 mm. çapında hematokrit kapillar tüplerden iki adet kullanıldı. Her iki kapillar tüpe, anılan materyal örneği vakumla çekildi. Tüplerden birine deneme diğereine ise kontrol boğasına ait sperma örneği eşit miktarda vakumla çekilerek tüplerin sperma çekilen ağızları medikal vazelinle kapatıldı. Bu işlemi takiben servikal mukus ile deneme ve kontrol boğalarının spermalarına ait birleşme noktası asetat kalemiyle çizilerek tüp yüzeyinde belirlendi ve test tüpleri etüv içerisinde 25 C° 'de 90 dk. inkübasyona bırakıldı.

Bu süre sonunda servikal mukus örneklerinin bulunduğu deneme ve kontrol test tüplerinde, aglutinasyon, motilite ve migrasyon değerleri saptandı. Aglutinasyon reaksiyonu muayenesinde örnekler baş-başa ya da kuyruk-kuyruğa spermatozoon kümeleri (aglutinasyon) yönünden ele alınarak, deneme ve kontrol test tüpleri baştan sona kadar (x40 büyütme ile) incelendi. Kapillar test tüplerinde spermatozoon motilitesi en az üç ayrı mikroskop alanında bir yönde, hızlı hareketli spermatozoonların oranı olarak tesbit edildi ve % olarak değerlendirildi. Migrasyon değeri, mikroskop altında servikal mukus ile spermanın birleşme noktasından itibaren görülen en ilerdeki spermatozoon arasındaki uzaklık ölçülerek saptandı ve cm. olarak belirlendi.

Servikal mukus örneklerine benzer yöntemle penetrasyon testine hazırlanan kan serum örnekleri, 25 C° 'de bulunan etüvde 2 dk. inkübasyona bırakıl-

dıktan sonra anılan üç parametrenin muayenesine geçildi. Parametrenin ilki olan aglutinasyon derecesi test tüplerinde kuvvetli (+++), orta (++) ve normal (+) olmak üzere üç kategoride değerlendirilirken, diğer iki parametrenin değerlendirilmesi servikal mukus örneklerinde anlatılan yöntemle yapıldı.



## BULGULAR

### **Servikal Mukus Örneklerine Ait Bulgular:**

Aglutinasyon Bulguları: Deneme boğasının spermasyonu test edilen 50 adet servikal mukus örneğinde aglutinasyon reaksiyonu (spermatozoon kümele-ri) 9'unda (% 18) pozitif, 41'inde (% 82) ise negatif olarak saptandı. Aynı ser- vikal mukus örnekleri kontrol boğasının spermasyonu test edildi ve hiç bir ör- nekte aglutinasyon reaksiyonu görülmedi.

Motilite ve Migrasyon Bulguları: Aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet servikal mukus örneğinde ortalama motilite ve migrasyon de- ğerleri deneme boğalarının spermalarında sırasıyla % 7.2 ve 1.85 cm., kontrol boğasının spermalarında ise % 8.8 ve 3.61 cm. olarak bulundu. Servikal mu- kus örneklerine ait aglutinasyon bulguları ile motilite ve migrasyon bulguları Tablo I'de topluca verilmiştir.

Aglutinasyon reaksiyonu negatif saptanan 41 adet servikal mukus örnekle- rinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri Tablo II'de sunulmuştur. Tablo- dan da görüleceği gibi ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme boğa- larının spermalarında sırasıyla % 8.04 ve 3.31 cm., kontrol boğasının sperma- sında ise % 11.34 ve 3.72 cm. olarak saptandı.

### **Kan Serum Örneklerine Ait Bulgular:**

**Aglutinasyon Bulguları:** Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet inek ve düvenin kan serum örnekleri ile deneme boğalarının sperması kullanılarak yapılan penetrasyon testinde saptanan aglutinasyon derecesi örneklerin 1' inde kuvvetli, 2' sinde orta ve 6' sında normal, kontrol boğasının sperması kullanılarak yapılan teste ise, anılan parametre örneklerin 1' inde kuvvetli, 2' sinde orta ve 6' sında normal olarak saptandı.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet inek ve düvenin kan serum örnekleri ile deneme boğalarının sperması kullanılarak yapılan penetrasyon testinde saptanan aglutinasyon derecesi örneklerin 7' sinde kuvvetli, 14' ünde orta ve 20' sinde normal, kontrol boğasının sperması kullanılarak yapılan teste ise anılan parametre örneklerin 8' inde kuvvetli, 18' inde orta ve 15' inde normal olarak bulundu.

**Motilite ve Migrasyon Bulguları:** Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet inek ve düvenin kan serum örneklerinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme boğalarının spermalarında sırasıyla % 31.1 ve 0.51 cm., kontrol boğasının spermasında ise % 27.7 ve 0.46 cm. olarak saptandı. Kan serum örneklerine ait aglutinasyon bulguları ile motilite ve migrasyon bulguları Tablo III' de topluca verilmiştir.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet inek ve düvenin kan serum örneklerinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri Tablo IV' de sunulmuştur. Tablodan da görüleceği gibi ortalama



migrasyon ve motilite değerleri, deneme boğalarının spermalarında sırasıyla %22.07 ve 0.63 cm., kontrol boğasının spermasında ise % 20.85 ve 0.69 cm. olarak bulundu.



**TABLO I - Servikal Mukus Penetrasyon Testi sonunda aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan servikal mukus örneklerine ait motilite ve migrasyon değerleri.**

No	DENEME			KONTROL		
	Aglutinasyon	Motilite %	Migrasyon (cm)	Aglutinasyon	Motilite %	Migrasyon (cm)
1	+	10	1.5	-	0	5.0
2	+	0	2.1	-	0	3.6
3	+	5	0.8	-	5	2.6
4	+	15	1.4	-	20	4.0
5	+	10	1.9	-	5	3.5
6	+	0	1.9	-	5	2.5
7	+	10	2.6	-	20	4.4
8	+	10	3.0	-	10	4.1
9	+	5	1.5	-	15	2.8
ORTALAMA		7.2	1.85		8.8	3.61

TABLO II- Servikal Mukus Penetrasyon Testi sonunda aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan servikal mukus örneklerine ait motilite ve migrasyon değerleri.

No	DENEME			KONTROL		
	Aglutinasyon	Motilite (%)	Migrasyon (cm)	Aglutinasyon	Motilite (%)	Migrasyon (cm)
1	-	20	3.1	-	30	5.0
2	-	0	1.0	-	0	3.5
3	-	10	5.1	-	35	6.3
4	-	20	1.5	-	25	2.5
5	-	0	4.5	-	5	5.1
6	-	10	2.5	-	20	5.6
7	-	0	5.9	-	0	2.4
8	-	10	1.4	-	40	2.3
9	-	0	2.6	-	5	3.2
10	-	5	1.2	-	5	3.1
11	-	0	4.1	-	10	5.1
12	-	5	3.7	-	15	6.1
13	-	20	5.8	-	20	3.7
14	-	0	3.5	-	0	5.5
15	-	20	3.5	-	20	5.0
16	-	5	1.2	-	0	2.5
17	-	0	1.5	-	0	2.1
18	-	25	4.3	-	20	4.6
19	-	10	4.5	-	15	5.8
20	-	5	5.0	-	10	4.7
21	-	5	1.9	-	5	1.5
22	-	15	3.2	-	10	5.0
23	-	10	5.7	-	15	3.0
24	-	0	2.1	-	15	2.5
25	-	5	2.9	-	0	2.3
26	-	5	5.7	-	5	5.7
27	-	0	5.5	-	15	3.0
28	-	5	4.5	-	10	4.1
29	-	10	1.2	-	10	1.0
30	-	15	5.8	-	10	5.6
31	-	15	3.5	-	20	4.8
32	-	0	2.1	-	20	3.1
33	-	10	2.5	-	20	2.6
34	-	0	2.5	-	0	2.4
35	-	10	3.1	-	5	3.5
36	-	20	2.4	-	10	3.9
37	-	20	3.1	-	0	2.8
38	-	5	3.2	-	10	3.5
39	-	0	3.7	-	5	3.1
40	-	5	2.3	-	0	2.4
41	-	10	3.3	-	5	2.8
ORTALAMA		8.04	3.31		11.34	3.72

**TABLO III - Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan materyallerin kan serumlarına ait motilite ve migrasyon değerleri.**

No	DENEME			KONTROL		
	Aglutinasyon	Motilite (%)	Migrasyon (cm)	Aglutinasyon	Motilite (%)	Migrasyon (cm)
1	+	20	0.5	++	40	0.4
2	+	30	0.4	++	10	0.6
3	+++	15	0.6	+	10	0.4
4	+	35	0.4	+++	5	0.2
5	+	40	0.4	+	35	0.3
6	+	40	0.5	+	30	0.4
7	+	35	1.0	+	45	1.0
8	++	30	0.3	+	35	0.5
9	+	35	0.5	+	40	0.5
ORTALAMA		31.1	0.51		27.7	0.46

TABLO IV- Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan materyallerin kan serumlarına ait motilite ve migrasyon değerleri.

No	DENEME			KONTROL		
	Aglutinasyon (%)	Motilite	Migrasyon (cm)	Aglutinasyon (%)	Motilite (%)	Migrasyon (cm)
1	+	25	1.2	+	35	1.1
2	+	30	0.9	++	40	1.1
3	+	0	0.6	++	25	0.4
4	+	35	0.3	++	10	0.5
5	+	25	0.4	+	10	0.6
6	+	15	0.9	++	10	1.2
7	++	35	0.7	++	20	0.8
8	+	25	0.6	+	20	0.7
9	++	15	0.7	+	30	1.0
10	+	30	0.6	+++	0	1.0
11	+++	15	0.5	+	30	0.7
12	++	0	0.5	+++	5	0.3
13	+	45	0.7	+	40	0.8
14	+++	10	0.9	++	25	0.8
15	+++	0	0.3	+++	0	0.2
16	++	10	0.4	++	15	0.5
17	+++	10	0.2	++	15	0.6
18	+	40	0.4	+	35	0.5
19	++	25	0.2	++	30	0.4
20	+	30	0.4	++	30	0.5
21	++	25	0.5	++	30	0.7
22	++	30	0.6	++	25	0.7
23	+	25	0.9	+	20	0.4
24	+	25	0.8	+	30	1.0
25	+	25	0.5	+	20	0.7
26	++	20	0.7	+	15	0.5
27	++	15	0.3	+++	5	0.4
28	+	40	1.0	+	35	1.0
29	++	25	0.6	+++	15	0.6
30	+++	15	0.8	+++	10	0.9
31	+	20	0.4	+++	10	0.2
32	+	40	0.5	+	45	0.2
33	++	20	0.6	++	10	0.6
34	++	25	0.9	+++	10	0.8
35	+++	10	1.0	++	20	1.2
36	+++	5	1.0	++	20	1.0
37	++	25	0.8	++	15	0.4
38	+	35	0.7	+	25	0.6
39	++	15	0.9	++	20	1.2
40	++	20	0.7	++	30	0.8
41	++	25	0.5	++	20	0.6
ORTALAMA		22.07	0.63		20.85	0.69

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmada deneme boğasının spermasıyla test edilen 50 adet servikal mukus örneğinde aglutinasyon reaksiyonu (spermatozoon kümeleri) 9' unda ( % 18) pozitif, 41' inde ( % 82) ise negatif olarak saptandı. Aynı servikal mukus örnekleri kontrol boğasının spermasıyla test edildi ve hiç bir örnekte aglutinasyon reaksiyonu oluşmadığı görüldü. Araştırma kapsamındaki kimi repeat breeder ineklerin servikal mukus örneklerinde saptanan aglutinasyon reaksiyonu, benzer yöntem uygulayan araştırmacılar tarafından da saptanmıştır. Nitekim, Zafracas ve arkadaşları (52) elli adet repeat breeder ineğin servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonunu 33' ünde ( % 66) pozitif, 17' sinde ise ( % 34) negatif olarak oluştuğunu bildirmektedirler. Diğer bir çalışmada ise, penetrasyon testi uygulanan 94 adet servikal mukus örneklerinde negatiften zayıfa kadar değişen oranlarda aglutinasyon reaksiyonunun oluştuğu Matousek ve arkadaşları (54) tarafından saptanmıştır.

Bu alanda yapılan diğer çalışmalarda da sperma antijenlerine karşı oluşan izoantikorların kimi repeat breeder ineklerin servikal mukuslarında varlığı çeşitli serolojik testlerle de ortaya konmuştur. Jel Difusyon Testiyle yapılan bir çalışmada, 52 repeat breeder inek ve düvenin servikal mukus örneklerinin üçünde ( % 5.77) presipitasyon reaksiyonunun oluştuğu saptanmıştır (18). Panchal ve arkadaşları (57), 135 adet repeat breeder buffalonun servikal mukusları üzerinde yaptıkları

rı çalışmada antisperma antikorlarının 16 örnekte (% 11.85) bulunduğunu bildirmektedirler. Seshagiri ve arkadaşları (58) Tube-Slide Aglutinasyon Testi ile yaptıkları çalışmada, 59 adet repeat breeder ineğin servikal mukuslarında antisperma antikorlarının 4 örnekte (% 6.6) bulunduğunu saptamışlardır. Bu çalışmada saptanan aglutinasyon reaksiyonu benzer yöntem uygulayan Zafracas ve arkadaşlarının (52) bulgularından düşük, fakat değişik test yöntemi uygulayan diğer araştırmacıların (18, 57, 58) bulgularından ise oran itibariyle yüksek bulunmuştur. Anılan çalışmalarda saptanan bulgular arasındaki farklılıklar araştırmalarda değişik test tekniklerinin kullanılmasının yanında, repeat breeder hayvanların seçiminden kaynaklanmış olabilir. Yine de anılan çalışmalarda da görüldüğü üzere, benzer ya da değişik test yöntemleriyle, kimi repeat breeder ineklerin servikal mukuslarında antisperma antikorlarının varlığı ortaya konmuştur. Nitekim, Casida (59), repeat breeder etyolojisinde rol oynayan diğer faktörlerin yanında immun kökenli reaksiyonların da bulunduğunu bildirmektedir. Menge (42) ise, immun kökenli reaksiyonların ineklerde etyolojisi anlaşılamayan infertilite olgularının bir kısmından sorumlu olabileceğini ileri sürmüştür.

Araştırmada aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan servikal mukus örneklerinde, spermatozoonların baş-başaya ya da kuyruk-kuyruğa aglutinasyon kümeleri oluşturarak titreme hareketi gösterdikleri ya da immobilize oldukları gözlemlendi. Bu çalışmada servikal mukus örneklerinde saptanan aglutinasyon reaksiyonu kimi literatür bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Spermatozoonun plazma membranı değişik yapı karakteri gösteren antijenlerden oluşmuştur (27, 29) ve bu antijenler homolog antikorlarla temasa geçtikleri

zaman yüzey antijenlerinin bulunduğu bölge üzerinde tipik aglutinasyon reaksiyonunun oluşumunun görüldüğü bildirilmektedir (29). Nitekim, değişik yazar ve araştırmacılar (7, 8, 17, 20, 27, 32, 38, 47), servikal mukusta bulunan izoantikörlerin spermatozoonları bu şekilde kümeleştirip hareketsiz kılmak suretiyle, motil spermatozoonların uterusun yukarı bölümleriyle ovudakta gitmelerine engel olduklarını ve bu durumun fertilité oranının azalmasına neden olabileceğini ileri sürmektedirler. Alexander ve Anderson da (46), sperma ile immunize edilen kadınlarda spermatozoonların dişi genital sisteminde aglutinasyona uğradıklarını ve bu oluşumun fertilitéyi azaltan nedenler arasında yer alabileceğini ileri sürmüşlerdir. Gerek bu çalışmada saptanan bulgulara, gerekse literatür verilerine dayanarak kimi repeat breeder inek ve düvenin servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonunun oluşabileceği, hatta bu oluşumun bir infertilité nedeni olabileceğini düşünmek olasıdır. Zira servikal mukusta bulunan antisperma antikörlerinin kimi ineklerde infertilitéye neden olduğu yönünde yayınlar vardır (29, 60).

Ackerman ve arkadaşları (61), reproduktif sistemde bulunan antisperma antikörlerinin spermatozoonların fertilizasyon bölgesine doğru ilerlemelerine engel olduklarını bildirmişlerdir. Genital kanalda görülen bu olgu anılan yazarlara göre, immun kökenli infertilité olgularında rol oynayan bir mekanizma olarak görülmektedir. Yine de anılan oluşum, genital sistemde oluşan immun kökenli reaksiyonların yalnızca birisi olarak kabul edilmektedir. Çünkü Tsukui ve arkadaşları (62), servikal mukuslarında antisperma antikörleri bulunan izoimmun kadınlara uyguladıkları intrauterin tohumlamanın, düşük fertilité problemini gidermediğini bildirmektedirler. Yazarlar bu



durumun, serviks dışında bulunan antisperma antikorlarından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Bugüne kadar söz konusu olgu hakkında pekçok mekanizma öne sürülmüştür. Bunların birlikte rol oynaması da olası görülmektedir. İmmun kökenli bu mekanizmalar arasında, makrofajlarca spermatozoonların fagosite edilmesi (24, 63) ya da bir tamamlayıcı faktör (kompleman) aracılığı ile hücre erimesinin (lizisinin) uyarılmasıdır (7, 24).

Fertilizasyondan önce spermatozoonlar dışının genital sisteminde bir dizi morfolojik ve biyokimyasal değişikliğe uğrarlar (13, 20, 27). Reprodüktif sistemde izoantikorların bulunması, bu bir dizi işlemleri değiştirir ya da engelleyebilir ve böylece ovum penetrasyonu ya da daha sonraki gelişmeler durabilir (27). Spermatozoonun plazma membranına karşı oluşan antikorların membran partiküllerinin mobilitesini etkileyerek kapasitasyon ya da akrozom reaksiyonunu uyaran bölgeleri sakladıkları bildirilmektedir (13, 20, 27, 32, 64). Nitekim, insan sperması kapasitasyondan önce antisperma monoklonal antikorlarına maruz bırakıldığında spermatozoonların hamster yumurtasıyla olan fizyonunun oluşmadığı saptanmıştır (13). Anılan durumun dışında antisperma antikorlarının, hyaluronidaz enziminin salınımına engel olmak, spermatozoonların cumulus oophorus ile birleşme bölgelerinde blok oluşturmak ve cumulus içinde spermatozoonların geçişini engellemek suretiyle etkili oldukları ileri sürülmektedir (13, 27, 32). Spermaya karşı oluşan antisperma antikorları çeşitli yollarla fertilizasyonu engeller ya da aksatırlar. Nitekim, Bronson ve arkadaşları (51), spermatozoonların baş bölgesine karşı oluşan antisperma antikorlarının in vitro fertilizasyonu engellediğini saptamışlardır. Spermatozoonların zona pellusidaya bağlanması türlere göre spesifik olup zona pelu-

sidanın yüzeyinde spermatozoonların bağlandığı reseptörlerin bulunduğunu gösterir. Reseptör bölgelerine karşı oluşan bu antikörlerin, spermatozoonların zonaya bağlanmasını ve daha sonraki penetrasyonu engelledikleri bildirilmektedir (20, 27, 29, 32, 62). Ayrıca son yıllarda antikörlerin gelişmekte olan embriyo üzerindeki etkilerini konu alan araştırmalar da yapılmıştır (7, 27, 65). Behrman (31), blastosistte fetal ve maternal bölümleri arasında mevcut anatomik ayırım varlığını sürdürdüğü sürece, herhangi bir red problemi ortaya çıkmadığını, implante olan bu ovumun reddedilebilmesi için trofoblastların çok yüksek antijenik özellik taşıması gerektiğini, genel olarak anneye ait antikörlerin implante ovumla temasa geçmediğini, ancak embriyo hücrelerinin çeşitli kısımlarına karşı antikörler oluştuğu zaman, embriyo gelişiminin durduğunu bildirmektedir.

Aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet servikal mukus örneğinde deneme ve kontrol boğalarına ait ortalama motilite değerleri sırasıyla % 7.2 ile % 8.8 olarak saptanmıştır. Elde edilen ortalama motilite değerlerine bakıldığında, deneme ve kontrol boğaları arasında farkın bulunduğu, ancak bu farkın çok az olduğu görülmektedir. Matousek ve arkadaşları (54), benzer yöntemle test ettikleri servikal mukus örneklerinde motilitenin % 0-30 arasında değiştiğini saptamışlardır. Araştırmada saptanan ortalama değerler, anılan çalışmada bildirilen değerlerle uyumludur. Anılan değerler arasındaki fark az da olsa, servikal mukusta bulunan antisperma antikörlerine bağlanabilir. Nitekim, Sinha ve arkadaşları (66), servikal mukusta bulunan kimi izoantikörler ile hareketsiz ya da çok zayıf motil spermatozoonlar arasında bir ilişkinin olduğunu ve anılan durumun spermatozoonlarda motilite kaybıyla sonuçlandığını, infertil kadınlar üzerinde yaptıkları araştırma-

larda ortaya koymuşlardır. Bronson ve arkadaşları (8) ise, servikal mukusta spermatozoonların baş bölgesine karşı oluşan izoantikorların motilite üzerine bir etkisinin olmadığını, oysa kuyruk bölgesine karşı oluşan antisperma antikorlarının ise motilite kaybına neden olabileceğini bildirmektedirler. Aynı çalışmada kuyruk bölgesine karşı oluşan izoantikorların infertilite oluşumuna pek etkili olmadığı da ileri sürülmüştür.

Aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet servikal mukus örneğinde anılan parametre deneme ve kontrol boğası için % 8.04 ile % 11.34 olarak saptanmıştır. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, deneme boğalarına oranla kontrol boğasında daha yüksek oranda motilite saptanmıştır. Galli ve arkadaşları (55) ise, 20 mm'den küçük ve büyük migrasyon değeri gösteren test örnekleri için dondurulmuş boğa spermasının ortalama progresif motilite değerini sırasıyla % 20.8  $\pm$  11.51 ile % 30.5  $\pm$  12.7 olarak bildirmektedirler. Çalışmada elde edilen bulgular, anılan araştırmada elde edilen bulgulardan çok düşük bulunmuştur. Motilite değerleri arasındaki bu farklılık, yaş, ejakulasyonlar arasındaki zaman ve antikorlar gibi kimi endojen ya da ısı ve viskozite gibi kimi ekzojen faktörlerden etkilenebileceği gibi soyut bir değerlendirme tekniği olmasından da kaynaklanmış olabilir.

Ayrıca bu araştırmada aglutinasyon pozitif olarak saptanan servikal mukus örneklerinde deneme boğasına ait ortalama motilite değeri, aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan deneme ve kontrol boğalarına ait motilite değerinden düşük bulunmuştur. Genel olarak çalışmada elde edilen en düşük motilite ortalaması %7.2 ile servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan deneme boğasından, en yüksek motilite ortalaması ise % 11.34 olarak

servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan kontrol boğasından elde edilmiştir. Aglutinasyon reaksiyonu pozitif ve negatif olarak saptanan örneklerde kontrol denemelerine ait ortalama motilite değerinin yüksek olması, değerlendirmeye tek bir boğanın dondurulmuş sperma örneklerinin kullanılmasına bağlanabilir.

Genital sistemde bulunan izoantikörlerin spermatozoon motilitesinin azalmasına neden olduğu yönünde çeşitli literatür verileri bulunmaktadır (7, 38, 67). Bu araştırmada saptadığımız en düşük değer aglutinasyon reaksiyonu görülen örneklerde olması bu fikri kuvvetlendirmektedir. Fakat yine de, aglutinasyon reaksiyonu pozitif ve negatif örneklerin motilite değerleri birbirlerine çok yakın bulunmuştur. Bu alanda konu ile ilgili çalışmaların çok sınırlı olması ayrıntılı tartışma olanağını ortadan kaldırmıştır.

Aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan 9 adet servikal mukus örneğinde deneme ve kontrol boğalarına ait ortalama migrasyon değerleri sırasıyla 1.85 cm. ile 3.61 cm. olarak ölçülmüştür. Sonuçlardan da izlenebileceği gibi, deneme grubuna ait ortalama migrasyon değerinin kontrol grubundan düşük olması, servikal mukusta izoantikörlerin bulunmasına bağlanabilir. Nitekim, servikal mukus örneklerinde değişik oranda aglutinasyon reaksiyonu saptayan Matousek ve arkadaşları (54), migrasyon değerini  $14 \pm 11$  mm. olarak bildirmektedirler. Anılan çalışmada saptanan migrasyon değeri, deneme boğasına ait değerler ile uyum içinde olmasına karşın kontrol boğasına ait değerden düşük bulunmuştur. Yapılan bu araştırmanın sonucuna ve anılan literatürün verilerine dayanarak, servikal mukusta bulunan izoantikörlerin spermatozoonların migrasyon hareketini olumsuz yönde etkilediğini düşünmek olasıdır. Nitekim, kimi yazar ve araştırmacıların (7, 8,

20, 24, 38, 47, 61) görüşlerinin de bu savı destekler nitelikte olduğu görülmektedir. Wang ve arkadaşları (68) ise, spermatozoonun baş bölgesinde bulunan antikorlara oranla kuyruk bölgesinde bulunan antikorların, servikal mukustaki migrasyonu daha az engellediği görüşünü ileri sürmüşlerdir.

Aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet servikal mukus örneğinde anılan değerler deneme ve kontrol boğası için 3.31 cm. ile 3.72 cm. olarak saptanmıştır. Elde edilen ortalama migrasyon değerlerine bakıldığında, deneme ve kontrol boğaları arasında farkın bulunduğu, ancak bu farkın dikkate değer nitelikte olmadığı görülmektedir. Değerler arasındaki bu fark, kontrol olarak tek boğanın spermasının kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Hatta anılan değerler servikal mukus örneklerinde aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan deneme grubuna ait değerden yüksek bulunmuş olmasına karşın, kontrol grubuna ait değerle uyumlu olduğu söylenebilir. Galli ve arkadaşları (55), 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. Spermatozoon migrasyon değerleri arasındaki bu farklılıklar testin in vitro olarak farklı ısılarda yapılması yanında, çalışmalarda kullanılan servikal mukusun fizikokimyasal yapısına da bağlanabilir. Lorton ve arkadaşları (56), 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. Alexander (38) ise, servikal mukus suyunun % 85 ile % 98 arasında değiştiğini ve mukus suyunun % 95' in altına indiği zaman servikal mukusta spermatozoon mig-

rasyonunun hızla azaldığını bildirmektedir. Kumar ve arkadaşlarına (69) göre ise, spermatozoonların servikal mukus içinde ilerleme hızı ile viabilitesinin folliküler gelişme ile ilişkisinin olduğunu ve anılan durumun mukusun elastikiyetine ve düşük viskozitesine bağlanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca anılan araştırmada, soğutulmuş ve dondurularak saklanmış boğa spermasını kullanarak yaptıkları penetrasyon testinde aynı parametreyi 37 C° de 20 dk. süreyle 49.90 mm. ve 58.58 mm. olarak saptamışlardır. Soğukta ve dondurularak saklanan spermalar arasındaki parametre farkını yazarlar, soğukta saklama süresince spermada bulunan enerji rezervinin azalmasına bağlamaktadırlar. Nitekim, Okuda ve arkadaşları (70), yaptıkları araştırmada taze ve dondurulmuş boğa spermasının migrasyon değerlerini 38 C° ve 10 dk.lık süre sonunda  $66.9 \pm 1.9$  mm. ile  $58.7 \pm 1.3$  mm. olarak bildirmektedirler. Anılan faktörlerin dışında, spermatozoonların motilitesiyle servikal mukus içindeki migrasyon değeri arasında bir pozitif ilişkinin olduğu birçok araştırmacı (38, 53, 54, 70, 71) tarafından ileri sürülmüştür. Araştırmada saptanan bulgular ile anılan literatür verileri arasındaki farklılıkların temelinde taze ve dondurulmuş spermanın motilitesi, servikal mukusun fizikokimyasal yapısı ve antisperma antikoru gibi kimi faktörlerden kaynaklanabileceği ileri sürülebilir. Adı geçen faktörlerin dışında, kimi araştırmacılar spermatozoon konsantrasyonu (72) ile kimi morfolojik bozuklukların da (53, 71) spermatozoonların servikal mukus migrasyon derecesini etkileyebileceğini bildirmektedirler. Nitekim, Jeulin ve arkadaşları (73), kuyruk ya da orta kısma ait defektlerin spermatozoonların servikal mukusta migrasyona izin vermediği halde, baş bölgesine ait defektlerde anılan durumun oluşmadığını saptadıklarını bildirmektedirler.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan dokuz adet inek ve düvenin kan serum örnekleri ile deneme boğalarının sperması kullanılarak yapılan penetrasyon testinde, aglutinasyon derecesi örneklerin birinde kuvvetli, ikisinde orta ve altısında normal düzeyde saptandı. Bu dokuz materyalin kan serumu daha önce hiç tohumlanmada kullanılmamış kontrol boğasının sperması ile de teste tabi tutulmuş aynı aglutinasyon dereceleri elde edilmiştir. Kan serumunda spermatozoonları aglutinasyona uğratan kimi antikorların bulunmasından dolayı deneme ve kontrol gruplarına ait veriler benzer oranda bulunmuş olabilir. Nitekim, Matousek ve arkadaşları (54), penetrasyon testi uyguladıkları kan serum örneklerinde zayıftan kuvvetliye kadar değişen oranlarda aglutinasyon reaksiyonunun oluştuğunu saptamışlardır. Bu çalışmanın bulgularıyla anılan literatür verileri arasında da bir benzerliğin bulunduğu görülmektedir.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 adet hayvanın kan serum örnekleri ile deneme boğalarının sperması kullanılarak yapılan penetrasyon testinde saptanan aglutinasyon derecesi örneklerin 7' sinde kuvvetli, 14' ünde orta ve 20' sinde normal, kontrol boğasının sperması kullanılarak yapılan testte ise anılan değerler örneklerin 8' inde kuvvetli, 18' inde orta ve 15' inde normal olarak bulundu. Bulgulardan da anlaşılacağı gibi, servikal mukuslarında negatif aglutinasyon reaksiyonu saptanan hayvanların kan serum örneklerinde, deneme ve kontrol boğasının spermalarına karşı oluşan aglutinasyon derecesine ilişkin bulguların yüksek oranda benzerlik göstermesi, yukarıda anılan savı destekler yöndedir. Ayrıca bu verilerin Matousek ve arkadaşlarının (54) bulgularıyla da benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu pozitif olarak saptanan dokuz adet materyalin kan serum örneklerinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme boğalarının spermasında %31.1 ve 0.51 cm., kontrol boğasının spermasında ise, % 27.7 ve 0.46 cm. olarak saptandı. Elde edilen değerler incelendiğinde, deneme ve kontrol grupları arasında büyük bir farklılığın bulunmadığı görülmekle birlikte deneme boğasına ait anılan değerler biraz yüksek bulunmuştur. Deneme ve kontrol boğalarına ait spermatozoonların kan serum örneklerinde benzer oranda aglutinasyona uğramaları, her iki gruba ait motilite ve migrasyon değerlerinin birbirine yakın olmasına neden olduğunu düşünmek olasıdır. Matousek ve arkadaşları (54), dondurulmuş boğa spermasını kullanarak inek kan serum örneklerinde yaptıkları penetrasyon testinde motilite ve migrasyon değerlerini sırasıyla % 10-40 ve  $33 \pm 14$  mm. olarak bildirmektedirler. Çalışmada saptanan bulgularla yukarıda adı geçen araştırmacıların motiliteye ait bulguları uyumlu olmasına karşın migrasyona ait bulguların farklı olduğu görülmektedir. Anılan parametreler arasındaki farklılıklar değerlendirme yöntemlerinin farklı olmasından kaynaklanabilir.

Servikal mukuslarında aglutinasyon reaksiyonu negatif olarak saptanan 41 materyalin kan serum örneklerinde ortalama motilite ve migrasyon değerleri deneme boğasının spermasında % 22.07 ve 0.63 cm., kontrol boğasının spermasında ise % 20.85 ve 0.69 cm. olarak ölçüldü. Elde edilen değerler yönünden deneme ve kontrol grupları arasında büyük farklılığın bulunmadığı görülmekle birlikte, motilite değeri deneme, migrasyon değeri ise kontrol boğasında yüksek elde edildi. Anılan değerlerin birbirine yakın olması kan serumunda oluşan aglutinasyon dereceleriyle ilişkili olabilir. Bulgulardan da anlaşılacağı gibi, Matousek ve arkadaşları



(54) ile servikal mukuslarında pozitif aglutinasyon reaksiyonu saptanan materyalin kan serum örneklerine ait motilite ve migrasyon değerleri bulgularının çok büyük bir farklılık göstermediği görülmektedir. Değerler arasındaki farklılıklar yukarıda ileri sürülen nedene bağlanabilir.

Sonuç olarak Servikal Mukus Penetrasyon Testinin, kimi repeat breeder inek ve düvelerin etyolojisinde rol oynayan antisperma antikollarının klinik olarak teşhisinde yararlı olabileceği, ayrıca aglutinasyonun, spermatozoonların motilite ve migrasyon gücü üzerine negatif bir etki yarattığı kanısına varılmıştır. Servikal mukuslarında pozitif aglutinasyon reaksiyonu saptanan inek ve düvelerin kan serum örnekleriyle yapılan Penetrasyon Testinde deneme ve kontrol gruplarına ait aglutinasyon, motilite ve migrasyon değerlerinin servikal mukus bulgularını destekler nitelikte bulunmadığı saptanmıştır. Bu yüzden kan serumunda yapılan Penetrasyon Testinin immunolojik infertilite olgularının tanısı amacıyla kullanılmaması yararlı olacaktır. 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 deneysel olmayan çalışmalarla denenmesinin yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. ÖZKOCA, A.: Sığırlarda Reprodüksiyon ve infertilite. Gür-Ay Matbaası, İstanbul, 1986, 9-19, 111-142.
2. DEVECİ,H., KALKAN,C.: Döl tutmayan düvelerde, klitorisin çıkarılması ve koterizasyonunun, kan progesteron ve östradiol seviyeleri ile gebe kalma üzerine etkisi. Doğa-Tr.J.of Veterinary and Animal Sciences, 16: 163-175,1992.
3. DİNÇ, D.A.: Döl tutmayan (Repeat Breeder) hayvanlar. Theriogenology, Ed. ALAÇAM, E., Nurol Matbaacılık A.S., 1990, 233-240.
4. ALAÇAM, E.: Sığır Hastalıkları, 1. Baskı, Tekno-Grafik Matbaası, İstanbul, 1989, 435-458.
5. LAFI, S.Q., KANEENE, J.B.: Risk factors and associated economic effect of the repeat breeder syndrome in dairy cattle. Vet.Bull., 58: 891 - 903,1988.
6. AYALON, N.: The repeat breeder problem. Vlaams Diergeneeskunddig Tijdschrift, 53: 230-239,1984.
7. MANDELBAUM,S.L., DIAMOND, M.P., deCHERNEY, A.H.: The impact of antisperma antibodies on human infertility. J.Urol., 138: 1-8, 1984.
8. BRONSON, R.,COOPER, G.,RASENFELD, D.: Sperm antibodies: Their role in infertility. Fertil. Steril., 42: 171-183, 1984.

9. HAFEZ, E.S.E.: Transport and survival of gametes, *Reproduction in Farm Animals* 5th. edition, Ed. HAFEZ, E.S.E., Lea and Febiger, Philadelphia, 1987, 168-188.
10. FARAHANI, J.K., TOMPKINS, W., WAGNER, W.C.: Reproductive status of cows and incidence of antisperm antibodies. *Theriogenology*. 15: 605-612, 1981.
11. WILSON, L.: Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85: 652-655, 1954.
12. MENGE, A.C., BEHRMAN, S.J.: Immunologic problems of infertility. *Gynecologic Endocrinology* 3 th. edition. Ed. GOLD, J.J., JOSIMOVICH, J.B., Harper and Raw, Philadelphia, 1980, 690-707.
13. ALEXANDER, N.J.: Reproductive immunology: Relevance to infertility practice. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 38: 23-30, 1990.
14. BARLOW, D.H.: Antisperm antibodies on infertility. *Br. Med. J.*, 296: 310-311, 1988.
15. MENGE, A.C.: Induced infertility in cattle by iso-immunization with semen and testis. *J. Reprod. Fert.*, 13: 445-456, 1967.
16. MİNBAŸ, A.: Reprodüktif immunoloji alanındaki son gelişmelerin pratikteki yansımaları. Bursa Veteriner Hekimler Odası, II. Mesleki Eğitim Semineri, Bursa, 17-18 Mayıs 1989.
17. SUDO, N., SHULMAN, S., STONE, M.L.: Sperm - agglutination phenomenon in cervical mucus in vitro: A possible cause of infertility. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 129: 360-367, 1977.

18. 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.
19. OMRAN, K.F., HULKA, J.F.: Infertility associated with induced local antibody secretion against sperm in the bovine uterine cervix. *Int. J. Fertil.*, 16: 195-199, 1971.
20. ALEXANDER, N.J.: Natural and induced immunological infertility. *Current Opinion in Immunology*, 1: 1125 - 1130, 1989.
21. JAINUDEEN, M.R., HAFEZ, E.S.E.: Reproductive failure in males. *Reproduction in Farm Animals* 4 th. edition, Ed. HAFEZ, E.S.E. Lea and Febiger, Philadelphia, 1980, 471-493.
22. GRIFFIN, J.F.T., NUNN, W.R., HARTIGAN, P.J.: An immune response to egg-yolk semen diluent in dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 25: 193-199, 1971.
23. GRIFFIN, J.F.T., HARTIGAN, P.J., NUNN, W.R.: Antibodies to egg-yolk semen diluent and bovine infertility: A preliminary report. *Vet. Rec.*, 92: 481-482, 1973.
24. BEER, A.E., NEAVES, W.B.: Antigenic status of semen from the viewpoints of the female and male. *Fertil. Steril.*, 29: 3-22, 1978.
25. JONES, W.R.: Immunologic infertility- fact or fiction. *Fertil. Steril.*, 33: 577-586, 1980.
26. BRIESE, Von V., HOFMANN, R., MEIBNER, J., STRAUBE, W.: Nachweis der sekretorischen Immunglobulin A im Zervixsekret und in Zervikovaginalspülflüssigkeiten. *Zbl. Gynakol.*, 105: 229-235, 1983.

27. ALEXANDER, N.J.: The effects of antibody sperm-egg interaction. *Annals of New York Academy of Sciences*, 541: 317-323,1988.
28. MAYER,D.L., RIMDUSIT, S.,MISHELL, D.R.: Sperm distribution and degradation in the human female reproductive tract. *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 35: 831-840, 1970.
29. BERCHTOLD, M.: Infertilitat infolge immunologischer phanomene, Fertilitatsstörungen beim weiblichen Rind, Ed.GRUNERT, E., BERCHTOLD,M.,-Verlag Paul Parey,Berlin und Hamburg, 1982, 370-373.
30. HUGHES, J.P.: Clinical examination and abnormalities in the mare, *Current Therapy in Theriogenology* 1 th. edition, Ed. MORROW, A.D.,W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1980, 706-721.
31. BEHRMAN,B.J.: Kısıklıkta bağışıklıkla ilgili sorunlar immunolojik yaklaşım. *Gynecologic Endocrinology* 2 th. edition, Ed. GOLD, J.J., Çeviren KAZANCI-GİL, A., Güven Kitabevi Matbaası, Ankara, 1979, 632-646.
32. ALEXANDER, N.J.: Antibodies to human spermatozoa impede sperm penetration of cervical mucus or hamster eggs. *Fertil. Steril.*, 41: 433-439,1984.
33. GUPTA, S.K., MOUNTAIN,L.,ALEXANDER, N.J.: Seminal plasma antigens detected by immunoblotting with human sera from vasectomized males. *J. Reprod. Immunol.* , 12: 263-276,1988.
34. GÖKÇEN, H., MİNBAŞ, A.,ÇEKGÜL, E., ÇARLI,T.: İneklerdeki kimi infertilite olguları ile anti - sperma aglutininleri arasındaki ilişkiler üzerinde çalışmalar. *U.Ü.Veteriner Fak. Derg.*, 5-6: 141 - 148,1986-1987.

35. PURSWELL, B.J., CAUDLE, A.B., WILLAMS, D.J., BROWN, J.: Spermagglutinins in serum and seminal fluid of bulls and their relationship to fertility classification. *Theriogenology*, 20: 375-381, 1983.
36. SESHAGIRI, V.N., PATTABIRAMAN, S.R.: Immuno - electrophoretic characteristics of seminal antigens in Sindhi, Jersey and cross-bred bulls. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 10: 11-14, 1989.
37. SESHAGIRI, V.N., PATTABIRAMAN, S.R.: Characterisation of seminal antigens in Sindhi, Jersey and cross - bred bulls by immunodiffusion. *Indian Vet.J.*, 67: 137-140, 1990.
38. ALEXANDER, N.J.: Evaluation of male infertility with an in vitro cervical mucus penetration test. *Fertil. Steril.*, 36: 201-208, 1981.
39. HUANG, T.T.F., TUNG, K.S.K., YANAGIMACHI, R.: Autoantibodies from vasectomized Guinea pigs inhibit fertilization in vitro. *Science*, 213: 1267 - 1269, 1981.
40. KIDDY, C.A., STONE, W.H., TYLER, W.J., CASIDE, D.E.: Immunological studies on fertility and sterility. III. Effect of isoimmunization with blood and semen on fertility in cattle. *J. Dairy Sci.*, 42: 100 - 109, 1959.
41. McLAREN A.: Immunological control of fertility in female mice. *Nature*, 201: 582-585, 1964.
42. MENGE, A.C.: Early embryo mortality in heifers isoimmunized with semen and conceptus. *J. Reprod. Fert.*, 18: 67-74, 1969.

43. BEHRMAN, S.J., NAKAYAMA, M.: Antitestis antibody: Its inhibition of pregnancy. *Fertil. Steril.*, 16: 37-45, 1965.
44. WITKIN, S.S., CHAUDHRY, A.: Relationship between circulating antisperm antibodies in women and autoantibodies on the ejaculated sperm of their partners. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 161: 900-903, 1989.
45. SARKAR, S.: Carbohydrate antigens of human sperm and autoimmune induction of infertility. *The Journal of Reproductive Medicine*, 13: 93-99, 1974.
46. ALEXANDER, N.J., ANDERSON, D.J.: Immunology of semen. *Fertil. Steril.*, 47: 192-205, 1987.
47. MANARANG-PANGAN, S., BEHRMAN, S.J.: Spermatotoxicity of immune sera in human infertility. *Fertil. Steril.*, 22: 145-151, 1971.
48. 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.
49. 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.
50. KREMER, J.: A simple sperm penetration test. *Int. J. Fertil.*, 10: 209-215, 1965.
51. BRONSON, R.A., COOPER, G.W., ROSENFELD, D.L.: Seminal fluid antisperm antibodies do not reflect those present on the sperm surface. *Fertil. Steril.*, 48: 505-506, 1987.

52. ZAFRACAS, A.M., SAMOUILIDIS, S.C., CRICORION,A.B., KOHLER-SAMOUILIDIS,G.: Ein einfacher test zum nachweis von sperma-antikörperm in genital-schleim. Tierärztliche Umschau. 12: 973-974, 1987.
53. OVERSTREET, J.W.: Evaluation of sperm-cervical mucus interaction. Fertil.Steril., 45: 324-326, 1986.
54. 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.
55. 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.
56. 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.
57. 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.
58. SESHAGIRI, V.N.,PATTABIRAMAN,S.R.,KRISHNAN, A.R.: Incidence of sperm agglutinating antibody in regular and repeat breeding cross bred cows. Cheiron, 16: 152-154,1987.
59. CASIDA, L.E.: Present status of the repeat-breeder cows problem. J.Dairy Sci., 44: 2323-2329,1961.



60. TAKASHI,M.,SATO,E.,IZUM,T., IRITAN, A.: Sperm agglutinating factors in the cervical mucus of an infertile cow. Japanese Journal of Animal Reproduction, 28: 16-19, 1982.
61. ACKERMAN, S.B.,GRAFF,D., Van UEM, J.F.H.M.,SWANSON, R.J., VE-ECK, L.L., ACOSTA, A.A., GARCIA,J.E.: Immunologic infertility and in vitro fertilization. Fertil.Steril., 42: 474-477,1984.
62. TSUKUI, S., NODA, Y.,YANO, J., FUKUDA, A.,MORI, T.: Inhibition of sperm penetration through human zona pellucida by antisperm antibodies. Fertil. Steril., 46: 92-96, 1986.
63. LONDON, S.N., HANEY, A.F., WEINBERG, J.B.: Macrophages and infertility: enhancement of human macrophage-mediated sperm killing by antisperm antibodies. Fertil. Steril., 43: 274-278,1985.
64. BRONSON, R.A.,COOPER, G.W., ROSENFELD, D.L.: Complement-mediated effects of sperm head-directed human antibodies on the ability of human spermatozoa to penetrate zone- free hamster eggs. Fertil.Steril., 40: 91-95,1983.
65. ROCHE, J.F.: Early embryo loss in cattle, Current Therapy in Theriogenology 2 th. edition, Ed. MORROW, A.D., W.B.,Saunders Company, Philadelphia, 1986, 200-202.
66. 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.

67. 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.
68. WANG, C., BAKER, H.W.G., JENNINGS, M.G., BURGER, H.G., LUTJEN, P.: Interaction between human cervical mucus and sperm surface antibodies. *Fertil. Steril.*, 44: 484-488, 1985.
69. 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.
70. OKUDA, K., MURASE, T., SATO, K., MATSUZAKI, S., IWANO, S., IWAMA, N.: Penetration ability of bull spermatozoa into bovine cervical mucus. *Proc. 11th. Int. Congr. Anim. Reprod. A.I.*, 3: 279, 1988.
71. KOTOULAS, I.B., BURGOS- BRICENO, L.A., ARANA, J., BALMACE-DA, J.P., ASCH, R.H.: Human sperm penetration in bovine cervical mucus clinical studies. II. Use of split ejaculates. *Fertil. Steril.*, 42: 268-273, 1984.
72. 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.
73. 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.

## ÖZGEÇMİŞ

1966 yılında Sivas'ta doğdum. İlk,orta ve lise öğrenimimi İstanbul, Polatlı ve Antalya'da tamamladım. 1984-1985 öğretim yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesine girdim ve 1989 yılında mezun oldum. Aynı yıl Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde araştırma görevlisi olarak girdim ve doktora eğitimine başladım.

T.C. VETERİNER HAYAT BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
SAĞLIK BİLİMLERİ MERKEZİ