T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

ERKEK KEDİLERDE TESTİS İÇERİSİNE KİMYASAL MADDE VERİLEREK CERRAHİ OLMAYAN KISIRLAŞTIRMA

Menekşe GÜRSOY

DANIŞMAN
Prof. Dr. Alper BARAN

Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı

Dölerme ve Sun'i Tohumlama Programı

Mayıs, 2022

“Sevgili Anneme ve Babama” ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

ERKEK KEDİLERDE TESTİS İÇERİSİNE KİMYASAL MADDE VERİLEREK CERRAHİ OLMAYAN KISIRLAŞTIRMA

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 5721

TEŞEKKÜR

Doktora tezime başladığım andan itibaren büyük yardımlarını gördüğüm bilimsel danışmanım sayın Prof. Dr. Alper BARAN'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tezimin hayvan deneyleri bölümündeki yardımlarından dolayı arkadaşım Veteriner Hekim Burcu PELİT'e ve tükenmeyen enerjisiyle bana desteğini eksik etmeyen çalışma arkadaşım Veteriner Tekniker Dilek SAĞIR'a, histopatolojik inceleme ve değerlendirme aşamasında çok önemli katkılarından dolayı Prof. Dr. Ahmet GÜLÇUBUK'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı Öğretim üye ve yardımcılarından; Prof. Dr. Kemal AK, Prof. Dr. Serhat PABUÇCUOĞLU, Prof. Dr. Sema BİRLER, Prof. Dr. Serhat ALKAN, Prof. Dr. Mithat EVECEN, Prof. Dr. Özen Banu ÖZDAŞ, Prof. Dr. Kamber DEMİR, Doç. Dr. Asiye İzem SANDAL ve diğer Anabilim Dalı personellerine teşekkürü borç bilirim.

Mayıs 2022 Menekşe GÜRSOY

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI ..... **ii**
BEYAN ..... **iii**
BÜTÇE DESTEKLERİ ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **xii**
TABLO LİSTESİ ..... **xiii**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xiv**
ÖZET ..... **xv**
ABSTRACT ..... **xvii**
1. GİRİŞ **1**
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE **3**
2.1. Türkiye ve Dünyada Kedi Populasyonu 3
2.2. Kedi Populasyonunun Kontrolsüz Artışı ve Bunun Yarattığı Olumsuz Durumlar 4
2.3. Erkek Kedilerde Reprodüktif Organlar 5
2.3.1. Erkek Kedilerde Anatomi ve Embriyonik Dönemde Cinsel Farklılaşma 5
2.3.2. Dış Üreme Organları 7
2.3.2.1. Penis 7
2.3.2.2. Prepusyum 8
2.3.2.3. Testisler 8
2.3.2.4. Epididimis 9
2.3.2.5. Duktus Deferens 9
2.3.2.6. Skrotum 10
2.3.3. İç Üreme Organları 10
2.3.3.1. Prostat 10
2.3.3.2. Glandula Bulboürethralis 10
2.3.4. Erkek Kedilerde Reprodüktif Fizyoloji 11
2.3.4.1. Spermatogenezis 11

2.3.4.2. Spermatositogenezis 12
2.3.4.3. Spermiyogenezis 12
2.3.4.4. Spermiyasyon 12
2.3.4.5. Epididimal Transport, Olgunlaşma ve Depolanma 13
2.4. Erkek Kedilerde Reprodüktif Endokrinoloji 14
2.4.1. Hipotalamustan Salgılanan Hormonlar 14
2.4.1.1. GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) 14
2.4.2. Hipofiz Ön Lob'undan Salgılanan Hormonlar 14
2.4.2.1. FSH 14
2.4.2.2. LH 15
2.4.3. Gonadlardan Salgılanan Hormonlar 16
2.4.3.1. Testosteron 16
2.4.3.2. İnhibin 17
2.5. Erkek Kedilerde Reprodüktif Davranışlar 18
2.5.1. Erkek Kedilerde Puberta 18
2.5.2. Erkek Kedilerde Çiftleşme Davranışları 18
2.5.3. Erkek Kedilerde Ereksiyon ve Ejakülasyon 20
2.6. Erkek Kedilerden Sperma Alma Teknikleri 20
2.6.1. Suni Vajen 20
2.6.2. Elektroejakülasyon 21
2.6.3. Vajinal Lavaj 22
2.6.4. Epididimisden Spermatozoon Elde Edilmesi 22
2.7. Erkek Kedilerden Spermatolojik Özellikler 22
2.7.1. Hacim 23
2.7.2. Motilite Muayenesi 23
2.7.3. Spermatozoon Yoğunluğu 23
2.7.4. Spermatozoon Morfolojisi 23
2.7.5. PH 24
2.8. Erkek Kedilerde Kısırlaştırma Yöntemleri 24
2.8.1. Cerrahi Kısırlaştırma Tekniği 24
2.8.1.1. Cerrahi Kastrasyon 24
2.8.1.2. Cerrahi Preskrotal Vazektomi 25
2.8.1.3. Laparaskopik Vazektomi 25
2.8.2. Cerrahi Olmayan Kısırlaştırma Teknikleri 26

2.8.2.1. Hormonal Kısırlaştırma Teknikleri 26
2.8.2.1.1. Progestinler 26
2.8.2.1.2. Androjenler 27
2.8.2.1.3. GnRH Agonistleri 28
2.8.2.1.4. GnRH Antagonistleri 29
2.8.2.2. İmmunokontrasepsiyon 29
2.8.2.3. Reprodüktif Toksinler 31
2.8.2.4. İnvazif Olmayan Mekanik Yöntemler 32
2.8.2.5. Kimyasal Kısırlaştırma Teknikleri 32
2.8.2.5.1. Testis İçi Enjeksiyon 32
2.8.2.5.2. Epididimis İçi Enjeksiyon 36
2.9. Kısırlaştırma Yöntemlerinin Cinsellik ve Genel Davranışlar Üzerine Etkileri 37
2.10. Erkek Kedi Cerrahi Kastrasyonunun İstenmeyen Yan Etkileri 37
2.11. Kimyasal Kısırlaştırmanın Avantajları 39
3. YÖNTEM 40
3.1. Hayvan materyali ve çalışmaya hazırlanması 40
3.2. Grupların oluşturulması 40
3.3. Kimyasal maddelerin hazırlanması 41
3.4. Çalışma protokolü 42
3.5. Kan numunelerinin toplanması ve saklanması 43
3.6. Hayvanların anesteziye alınması 43
3.7. Testislerin muayenesi ve ölçümleri 43
3.7.1. Ultrasonografik (US) muayene 43
3.7.2. Kumpasla ile testislerin ölçümü ve hacminin değerlendirilmesi 44
3.8. Elektroejakülasyonla spermanın alınması ve uygulama protokolü 45
3.9. Spermatolojik özelliklerin değerlendirilmesi 46
3.9.1. Hacim 46
3.9.2. Motilite 46
3.9.3. Yoğunluk 46
3.9.4. Morfolojik bozukluklar 46
3.9.5. pH 46
3.10. Testis içerisine kimyasal madde uygulama protokolü 46
3.11. Histopatolojik incelemeler için testislerin cerrrahi orşiektomi tekniğiyle alınması 48
3.12. Anestezi protokolü 48

3.13. Orşiektomi operasyonu tekniği 48
3.14. Testosteron ve kortizol düzeylerinin saptanması 49
3.15. Testislerin histopatolojik değerlendirilmesi 49
3.16. İdrar muayenesi için örnek alınması ve değerlendirilmesi 50
3.17. Testis içi uygulama sonrası erkek kedilerin testislerinde, genel durumunda ve davranışlarında incelenen bulgular 51
3.18. İstatistiksel analiz 51
3.19. Alet ve malzeme listesi 51
4. BULGULAR 54
4.1. Erkek kedilerde uygulama öncesi ve sonrası saptanan genel klinik bulgular 54
4.2. Uygulama öncesi tüm gruplarda (0. gün) saptanan spermatolojik özellikler 54
4.3. Uygulama sonrası tüm gruplarda (20. gün) saptanan spermatolojik özellikler 55
4.4. Uygulama sonrası tüm gruplarda (40. gün) saptanan spermatolojik özellikler 56
4.5. Uygulama sonrası tüm gruplarda (60. gün) saptanan spermatolojik özellikler 57
4.6. Testosteron düzeyleri (ng/ml) 57
4.7. Kortizol düzeyleri (pg/ml) 58
4.8. Kumpas aleti ile saptanan testis ölçüleri 59
4.9. Ultrason (US) cihazı ile testiste saptanan bulgular 61
4.10. İntratestiküler yolla düşük, orta, yüksek doz $ZnCl_2$ uygulaması sonrası 60. günde cerrahi kısırlaştırma sonrası testis histopatolojisi 62
4.10.1. İntratestiküler düşük doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler 62
4.10.2. İntratestiküler orta doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler 63
4.10.3. İntratestiküler yüksek doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler 63
4.10.4. İntratestiküler $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan tüm gruplardaki erkek kedilere ait histopatolojik görüntüler (H.E. ×200) 64
4.10.5. İntratestiküler %0,9 NaCl uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler 65
4.10.6. İntratestiküler uygulama yapılmayan kontrol grubu erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler 66
4.10.7. İdrar örneklerinin makroskobik ve test stripleri kullanılarak kantitatif değerlendirilmesi 67
5. TARTIŞMA 69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 83
KAYNAKLAR 84

EKLER **96**
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI **97**
ETİK KURUL İZİN YAZISI **98**
KURUM İZNİ YAZILARI **99**
ÖZGEÇMİŞ **100**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2-1: Dünyadaki kedi nüfusu dağılımı 3

Şekil 3-1: Bir erkek kedi için uygulanan tüm çalışma protokolü 42

Şekil 3-2: Ultrasonografik ultrason cihazı (2A), linear prob ve ultrason jel pedi (2B) kullanılarak elde edilen normal testiküler yapının görüntüsü (2C) 44

Şekil 3-3: Kumpas ile erkek kedilerin testislerinin ölçümü 45

Şekil 3-4: Sperma alınırken kullanılan elektroejakülatör cihazı 45

Şekil 3-5: İntratestiküler enjeksiyon tekniği 47

Şekil 3-6: Erkek kedide intratestiküler enjeksiyonun uygulanması 47

Şekil 3-7. Cerrahi orşiektomi operasyonu ile testislerin çıkarılması 48

Şekil 3-8. Formaldehit içinde testisler 49

Şekil 3-9 ve Şekil 3-10: Steril esnek erkek kedi idrar sondası ile idrarın alınması 50

Şekil 4-1. Düşük doz çinko klorür uygulanan grup erkek kedilerde testosteron düşüklüğüne bağlı penil (spines) dikenciklerin kaybolması 58

Şekil 4-2: Testiste tubuluslarda gözlenen vakuolizasyon 64

Şekil 4-3: Testiste tubuluslarda gözlenen dejenerasyon 64

Şekil 4-4: Testis dokusunda gözlenen şiddetli fibrozis 65

Şekil 4-5: Testiste fibrozis ve boş tubulus seminiferuslar 65

Şekil 4-6: Tubuluslarda dejenerasyon, vakualizasyon, intertübüler alanda ödem, az sayıda Leydig hücreleri 65

Şekil 4-7: İntertubuler alanlarda genişleme, kollajen doku iplikleri 65

Şekil 4-8: Vakualizasyon dejenerasyonu, tubuluslarda spermatogonyumlar, spermatid ve spermatozoa 66

Şekil 4-9: İntertubuler alanda normal spermatogenez ve Leydig hücreleri 66

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4-1: İntratestiküler enjeksiyon öncesi (0. gün) uygulama ve kontrol gruplarının spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması 55

Tablo 4-2: İntratestiküler uygulama ve kontrol gruplarının 20. günde spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması 56

Tablo 4-3: İntratestiküler uygulama ve kontrol gruplarının 40. günde spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması 56

Tablo 4-4: İntratestiküler uygulama ve kontrol gruplarının 60. günde spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması 57

Tablo 4-5: Tüm uygulama gruplarında intratestiküler enjeksiyon öncesi ve sonrası farklı günlerde saptanan testosteron düzeyleri (ng/ml) 58

Tablo 4-6: Tüm uygulama gruplarında intratestiküler enjeksiyon öncesi 0. gün ve 20., 40. ve 60. günlerde saptanan kortizol düzeyleri (pg/ml) 59

Tablo 4-7: İntratestiküler uygulama öncesi 0. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler 59

Tablo 4-8: İntratestiküler uygulama öncesi 20. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler 60

Tablo 4-9: İntratestiküler uygulama öncesi 40. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler 60

Tablo 4-10: İntratestiküler uygulama öncesi 60. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler 61

Tablo 4-11: Enjeksiyon öncesi tüm gruplarda 0. günde idrardaki dansite ve pH değeri . . .67

Tablo 4-12. Enjeksiyon sonrası tüm gruplarda 20. günde idrardaki dansite ve pH değeri . 67

Tablo 4-13. Enjeksiyon sonrası tüm gruplarda 40. günde idrardaki dansite ve pH değeri . 68

Tablo 4-14. Enjeksiyon sonrası tüm gruplarda 60. günde idrardaki dansite ve pH değeri . 68

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
ºC:	santigrat derece
L:	litre
dl:	desilitre
mL:	mililitre
µl:	mikrolitre
kg:	kilogram
g:	gram
mg:	miligram
mcg (µg):	mikrogram
ng:	nanogram
pg:	pikogram
m:	metre
cm:	santimetre
":	inch
cm^2:	santimetre kare
mm:	milimetre
µm:	mikronmetre
sn:	saniye
sc:	subkutan
V:	volt
i.m:	intra muskular
rpm:	rounds per minute
mOsm:	mili osmol
mmol:	mili mol
mAmp:	mili amper

Kısaltmalar	Açıklama
GnRH:	Gonadotropin-releasing Hormone
FSH:	Follicle Stimulating Hormone
LH:	Luteinizing Hormone
hCG:	Human Chorionic Gonadotropin
RIA:	Radio Immuno Assay
EIA:	Enzyme Immuno Assay
ABP:	Androgen Binding Protein
IU:	International Unit
CASA:	Computer Assisted Semen Analyzer
MPA:	Medroxyprogesteron Asetat
DMA:	Delmadinone Asetat

ÖZET

DOKTORA TEZİ

ERKEK KEDİLERDE TESTİS İÇERİSİNE KİMYASAL MADDE VERİLEREK CERRAHİ OLMAYAN KISIRLAŞTIRMA

Menekşe GÜRSOY

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı

Dölerme ve Sun'i Tohumlama Programı

Danışman : Prof. Dr. Alper BARAN

Kimyasal kastrasyon kontrolsüzce sayısı artan pet popülasyonu için cerrahi olmayan bir üreme kontrolü çözümüdür. Cerrahi kastrasyonun pahalı olması, zaman alması ve post operatif komplikasyonlar gibi dezavantajları vardır. Bu çalışmanın amacı erişkin bir erkek kedinin kısırlaşmasını uyarmak için tek bir doz çift taraflı testis içi çinko klorür enjeksiyonunun klinik güvenilirliği ve etkinliğini değerlendirmektir.

Bu çalışma için iki ile üç yaş arası olan 20 adet erkek kedi seçildi. On iki adet erkek kedi 3 eşit gruba ayrıldı. Her gruptan 4 adet erkek kediye düşük, orta ve yüksek konsantrasyondaki çinko klorür, tek doz olarak ve çift taraflı olarak enjekte edildi (0,2 mL/ testis). Dört erkek kediye tek doz ve testis içine (0,2 mL/ testis) steril %0,9'luk NaCl solüsyonu uygulanırken, kontrol grubundaki 4 kediye hiçbir uygulama yapılmadı. Bütün hayvanların çinko klorür uygulamasından önceki (0. gün) kumpas ve US (ultrason) ile testis büyüklükleri, serum testosteron ve kortizol düzeyleri ve spermatolojik özellikleri, çinko klorür uygulamasından sonraki her 20 günde bir kez ve 60 gün boyunca incelendi. Erkek kediler 2 mg/kg dozunda ksilazin HCl ve ketamin HCl ile (10 mg/kg) kombine edilerek anesteziye alındılar. Sperma örnekleri elektroejakülatör ile alındı. Testis içi çinko klorür enjeksiyonlarından 60 gün sonra ise cerrrahi orşiektomi operasyonu gerçekleştirildi. Her bir erkek kedinin sağ ve sol testisleri histopatolojik çalışmalar için alındı.

Bu çalışmanın sonucunda, intratestiküler çinko klorür enjeksiyonunun spermatozoonların motilite oranlarını önemli ölçüde azalttığı ve spermatozoa anormalitelerini artırdığını göstermiştir. Histopatolojik çalışmalar testislerde belirgin düşük spermatozoon ve

seminifer tübüllerde dejenerasyon ve atrofi, Leydig hücre hiperplazisi ve epitel hücre vakuolizasyonu saptandı. Hiçbir kedinin genel sağlık koşullarında ve davranışsal durumunda önemli bir değişiklik olmadı. Tüm çinko klorür uygulama gruplarında 60 gün sonrasında erkek kediler azoospermi ve toplam testis hacminde %50 oranında azalma oldu. Klinik muayenede yan etkilerin minimal düzeyde olduğu ve hayvan refahına olumsuz etkilerinin olmadığı sonucuna varıldı.

Sonuç olarak, erkek kedilerin cerrahi olmayan yöntemlerle kimyasal yolla kısırlaştırılmasında testis içine çinko klorür enjeksiyonunun etkili bir yöntem olduğu ve yaşı ne olursa olsun güvenli olarak kullanılabileceği saptandı. Testis içine düşük doz (20 mg/0,2 mL) çinko klorür enjeksiyonunun erkek kedilerde kimyasal kısırlaştırma için kemosterilant olarak kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu görüldü.

Mayıs 2022 , 118 sayfa.

Anahtar kelimeler: Erkek kedi, testis içi, kimyasal kısırlaştırma, sperma, testosteron

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

NON SURGICAL INTRATESTICULAR CHEMICAL STERILIZATION IN MALE CATS

Menekşe GÜRSOY

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Reproduction and Artificial Insemination

Department of Reproduction and Artificial Insemination Programme

Supervisor : Prof. Dr. Alper BARAN

Chemical castration is a solution for pet overpopulation and for non surgical methods of male contraception. Surgical castration has some disadvantages: it is not cost-effective and time-consuming with risk of post operative complications. The aim of this study was to evaluate the clinical safety and efficacy of a single dose intratesticular injection of zinc chloride in causing sterility of male adult cats.

Twenty male cats of mixed breed aging from one to three years old were selected in this study. Twelve male cats divided into three groups equally. Four male cats of each group were given a single bilateral injection of low, mid- and high zinc chloride 0.2 mL/per testis. Four male cats received only a single bilateral intratesticular injection with 0.2 mL sterile 0.9% NaCl solution (0.2 mL/per testis) and another for 4 male cats haven't used any treatment (control). All animals were examined for testicular size for caliper and ultrasound (US), blood serum testosterone and cortisol level and spermatological traits was performed before zinc chloride injections, on day 0 and then every 20 days for 60 days. The cats were anaesthetized with either xylazine HCl (2 mg/kg) in combination with ketamine-HCl (10 mg/kg). Semen was collected by electroejaculation. Orchiectomy was performed using surgical procedure at 60 days after intratesticular zinc chloride injection. The right and left testis from each male cat were used for histopathological studies.

The results of the present study indicated that intratesticular injection of zinc chloride significantly decreased the motility rates and increased the abnormalities of the sperms. Histopathological studies revealed marked depletion of spermatozoa in the testes and seminiferous tubular degeneration, seminiferous tubular atrophy, Leydig cell hyperplasia and epithelial cell vacuolation. No cats had a significant increase in general health conditions or behavioral changes. All zinc chloride treatment groups male cats were azoospermic and had a

50% reduction in total testicular volume after 60 days. We concluded with a clinical exam, that the adverse reactions were minimal and did not interfere with animal welfare.

Results indicate that intratesticular injection of zinc chloride is an extremely effective method for non-surgical chemical castration of male cats and that it is safe regardless of age. In conclusion, the intratesticular injection of low dose (20 mg/0.2 mL) zinc chloride in testes had the potential as a chemosterilant for chemical sterilization in male cats.

May 2022, 118 pages.

Keywords: Male cat, intratesticular, chemical castration, semen, testosterone

1. GİRİŞ

Günümüzde hızlı ve kontrolsüz olarak artan pet populasyonu ve bunun sebep olduğu olumsuzluklar bütün dünyada başta büyük şehirlerde olmak üzere çok önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu aşırı nüfus aynı zamanda sosyal sorunlara, ekolojik sistemin zarar görmesine ve zoonoz hastalıklara da yol açabilmektedir (Brown 2003; Flockhart ve Coe, 2018; Kennedy ve ark. 2020).

Aşılanmamış, sağlık kontrolleri veteriner hekim tarafından düzenli olarak yapılamayan ve secereleri hakkında bilgi sahibi olamadığımız bu sokak hayvanları hem insan hem hayvan sağlığı açısından her zaman bir potansiyel tehlike olarak karşımıza çıkmaktadır. Aynı zamanda başıboş ve kontrolsüz olarak üreyen bu hayvanlar birbirleri arasında da hastalıkların kolay ve çabuk yayılmasına neden olmaktadırlar (Leoci ve ark. 2014a). Kontrolsüz üremenin engellenmesinde uygulanan cerrahi teknikler tek başına yetersiz kalmakta, fazla ekipman, deneyimli personel ve maddi imkan gerektirmektedir. Ülkemizde yaygın olarak cerrahi yolla toplu olarak yapılan kısırlaştırma operasyonları esnasında birçok hayvan post-operatif bakım koşullarının yetersizliği ve enfeksiyonlar nedeniyle hayatını kaybetmektedir. Üstelik cerrahi yolla reprodüktif organların çıkarılması sonucunda, vücuttaki steroid hormon dengesinin değişmesiyle beraber, aşırı yağlanma ve beraberinde dermatolojik rahatsızlıklar, özellikle brachio-cephalic ırklarda solunum problemleri, hareketsizliğe bağlı iskelet sistemi ve kalp dolaşım sistemi hastalıkları, metabolik rahatsızlıklar, idrar yolları problemleri gibi hastalıklara yakalanma oranı yükselmektedir. Kontrolsüz artan sokak hayvanı populasyonu özellikle büyük şehirlerde, onlara büyük özveriyle şefkat gösteren, yiyecek temin eden, hastalıklarında veteriner hekime götüren hayvan severlerle, onları etrafta görmek istemeyen ve onları tehlike olarak gören insanlar arasında da önemli sosyal gerilimlere yol açmaktadır. Ayrıca bu iki grup bulundukları il ve ilçelerin yerel yönetimleriyle de bu konu yüzünden problem yaşamaktadırlar (Baran 2016).

Yabanıl etçillerin hastalıkları da insan sağlığı ve refahı açısından son derece önemlidir. İnsanlarda gelişen zoonotik hastalıkların çoğu çapraz tür hayvanlardaki konaklardan köken alır. Bu hastalıkların tedavisi sırasında insan sağlığı ile hayvan sağlığının korunması ve dengelenebilmesi endişeleri de ortaya çıkmaktadır. Birçok enfeksiyöz hastalık yabanıl hayvanlardan evcil hayvanlara ya da tam tersi yolla bulaşabilmektedir. Bu hastalıkların insanlara bulaşmasının engellenebilmesi için de itlaf yöntemleri, maddi olarak uygun ve sonuç

verici görünse de bu uygulama hayvan refahının korunması gerekliliği yönünden etik olmayan bir durumdur (McCallum ve Hocking 2005).

Bütün bu bahsedilen olumsuzluklar üzerine araştırmacılar tarafından üremenin en önemli unsuru olan erkek kedi ve köpekler üzerinde cerrahi olmayan yollarla testis içi kimyasal kısırlaştırma teknikleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu yöntemlerin daha kısa zamanda çok sayıda hayvana kolaylıkla uygulanabilmesi, tek enjeksiyon uygulamasıyla hızlı sonuç alınabilmesi, operatif yöntem olmadığı için hayvan refahını etkilememesi ve barınak bakımı ve beslenmesinin olmaması açısından da çok az maddi kaynağa ihtiyaç göstermesi, gelecekte cerrahi yolla kısırlaştırmaya güçlü bir alternatif olarak görülmektedir.

Bilinç düzeyi yüksek olan bilim insanlarının üzerine düşen görev, doğanın süsü olan bu sevimli dostlarımızın yaşam hakkını en iyi şekilde koruyup, onların doğayla ve yaşadıkları çevreyle uyumlarını sağlamaya yönelik projeler üretip hızla hayata geçirmektir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. Türkiye ve Dünyada Kedi Populasyonu

Dünyada 33 farklı ırktan üreyen 500 milyonun üzerinde evcil kedi bulunmaktadır. Ortalama bir kedi yılda 2-3 arasında gebelik dönemi geçirir ve her doğumda 1-8 arası yavru doğurur. Üretken hayatı sırasında bir dişi kedi 100'ün üzerinde yavruya sahip olabilir. 1952 yılında ABD'nin Texas eyaletinde yaşayan Tabby adlı kedi, 18 yaşında son yavrusuna sahip olmadan önce doğurmuş olduğu 420'nin üzerindeki kedi ile bu alandaki rekorun sahibidir. Tek bir çift kedi ve onların doğurdukları yavru kediler, 7 yıl içinde 420,000'in üstünde birey içeren bir kedi nüfusu oluşturabilir (Moore 2007).

Dünyada en çok kedi nüfusu Amerika Birleşik Devletleri'ndedir. 2017 yılı istatistiklerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde 74 milyon 59 bin ev kedisinin yaşadığı ve evlerin %31'inde en az 1 kedi bulunduğu belirtilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'ni sırasıyla; 53 milyon 100 bin adetle Çin, 17 milyon 800 bin adetle Rusya, 12 milyon 466 bin adetle Brezilya, 11 milyon 480 bin adetle Fransa, 8 milyon 200 bin adetle Almanya, 8 milyon adetle İngiltere, 7 milyon 400 bin adetle İtalya, 7 milyon 350 bin adetle Ukrayna, 7 milyon 300 bin adetle Japonya takip etmektedir (Şekil 2-1).



Şekil 2-1: Dünyadaki kedi nüfusu dağılımı (https://www.mapsofworld.com/world-top-ten/countries-with-most-pet-cat-population.html) Erişim Tarihi: 22.04.2022

Ülkemizde yaşayan evcil kedi populasyonunun illere göre dağılımında Türkiye nüfusunun önemli bir bölümünü oluşturan iller olması nedeniyle İstanbul'un birinci, İzmir'in ikinci, Ankara'nın ise üçüncü sırada yer aldığı düşünülmektedir. Bu sıralamaya; bu illerin sosyo-ekonomik şartları, yaşayan insanların kültür seviyeleri ve pet hayvanlarına olan ilginin daha fazla olması gibi etkenler de rol almaktadır.

Evcil kediler mevsime bağlı poliöstrik hayvanlardır. Ovaryum aktivitesinin başlaması ve devamlılığı üzerinde gün ışığı süresinin önemli rolü vardır (Goodrowe ve ark. 1989). Dişiler günlerin uzamasına veya kısalmasına bağlı olarak mevsimsel anöstrus yaşarlar (Johnstone ve ark. 1994). Çiftleşme dönemi genellikle Ocak-Şubat aylarında başlar ve en yüksek seksüel aktivite ise Şubat-Mart aylarındadır. Çiftleşme dönemi Haziran-Kasım aylarında sona erer. Genellikle Eylül ayından sonra sikluslar görülmez. Dışarıda yaşayan kedilerde yıl boyunca 2-3 siklus görülürken; ev içinde beslenen kedilerde gösterilen östrus sayısı ortalama 13 kadardır. (Allen 1992).

Evcil dişi kediler pubertaya genellikle 6-9 ay civarında ve ortalama 2,3-2,5 kg vücut ağırlığına geldiklerinde ulaşırlar (Verstergen 2000). Erkek kedilerin ise seksüel olgunluğa erişmesi hayatlarının 9. ayı civarında (7-12 ay aralığında) gerçekleşir (Christiansen 1984). Spermatogenezisin görülmesi yaklaşık 20 haftalık iken, spermatozoon görülmesi ise 30-36 haftalık yaşta gerçekleşmektedir (Verstergen 2000).

Erkek kediler 14 yaşına kadar reprodüktif aktivitelerini gösterebilirler. Fakat en üretken dönemleri 4-6 yaşlar arasındadır (Scott 1970). Erkek kedilerden sene boyunca sperma alınabilmektedir. Yıl boyunca çiftleşebilen erkek kediler, istenmeyen kedi populasyonunun artmasında çok sayıda dişi ile çiftleşebildiğinden dolayı birincil faktör olarak rol oynamaktadırlar (Baran 2013).

2.2. Kedi Populasyonunun Kontrolsüz Artışı ve Bunun Yarattığı Olumsuz Durumlar

Ülkemizde sokaktaki kedi sayısı, bir evi ve sahibi olan kedilerden oldukça fazladır. Birçok kedi de sokakta yaşamakta ancak onlara sahip çıkan hayvanseverler tarafından beslenmekte ve gönüllü veya yardımsever veteriner hekimler tarafından olabildiğince sağlık hizmeti almaktadırlar. Yine bu kedilerin birçoğu büyük şehirlerde kurulan barınaklarda belediyeler tarafından korunmakta ve ihtiyaç olduğu takdirde sağlık kontrolleri yapılmaktadır. Ancak bunlara ayrılan ödenek ve uzman personel yetersizliğinden dolayı özellikle bulaşıcı hastalıkların ve dolayısıyla ölümlerin önüne geçilememektedir (Baran 2013).

Dişi kediler hayatlarının yaklaşık 6. ayında doğurganlık özelliği kazanmaktadırlar. Sokakta kolayca çiftleşebilecek erkek kedi bulmakta ve kısa sürede gebe kalmaktadırlar. Dünyaya gelen yavru kedilerin birçoğu bulaşıcı viral hastalıklar, annelerinin onları erken bir zamanda terk etmesi, aşırı sıcak ya da soğuk gibi çevresel faktörler, kedileri sevmeyen insanların kötü davranışları, dikkatsiz sürücülerin neden olduğu trafik kazaları gibi birçok sebepten dolayı yaşamlarının başında hayatlarını kaybetmekte ya da ömür boyu sakat kalabilmektedirler (Baran 2013).

2.3. Erkek Kedilerde Reprodüktif Organlar

2.3.1. Erkek Kedilerde Anatomi ve Embriyonik Dönemde Cinsel Farklılaşma

Erkek kedilerde reprodüktif organlar penis, prepusyum, skrotum, testisler, epididimisler, duktus deferens, prostat ve glandula bulboüretralis bezleri ve üretra'dan oluşur (Davidson ve Baker 2009).

Erkek kedilerde seksüel farklılaşma süreci henüz fertilizasyon esnasında, Y-kromozomlu spermin X-kromozomlu oosite penetrasyonuyla başlar. Erkek kedilerin kromozom sayısı ve kromozomal bütünlüğü 38, XY olarak kaydedilmiştir. Embriyolojik dönemde erkek kedilerin gonadları, mezonefrozların medialinde bulunan mezenşimal gonadal bölgedeki farklılaşmamış dokudan köken almaktadır (McEntee 1990).

Primordiyal eşey hücrelerinin, endoderm yolk kesesinden gonadal sırtlara göçünü takiben henüz farklılaşmamış gonadal doku, Y'nin cinsiyet belirlenme bölgesinde Y kromozomu varlığında testis dokusuna farklılaşır. Fötal testislerin interstisiyel hücrelerinden salgılanan testosteron, mezonefrik (wolff) kanal sisteminin gelişmesine ve bu sistemden epididimis ile vaza deferensiyanın oluşmasına neden olur. Fötal sertoli hücrelerinden salgılanan Müller'in inhibe edici maddesi (Müllerian inhibiting substance-MIS) paramezonefrik kanal sisteminin regrese olmasını uyarır ve dişilerde tubuler üreme organlarının gelişmesini sağlar. Prostat üretranın endodermal tomurcukları ile komşu ürogenital sinüsten köken alır ve gelişir. Glandula bulboüretralis ise penil üretradan köken almaktadır(McEntee 1990).

Dış genital organlar genital tüberkülden köken alır ve genital şişme (swelling) 5-alfa redüktaz enzimi tarafından testosteron'dan dönüştürülen dihidrotestosteron etkisi altında meydana gelir. Erken formasyon esnasında, penis balanoprepusyal kıvrımın üzerinden prepisyuma yapışır, bu kıvrımın açılması erkek memelilerde doğum sonrası gerçekleşir ve androjene bağlı olarak gelişen bir durumdur (Cooper ve Aronson 1969; Herron 1971).

Kedilerde bu kıvrımın yok olması penisin prepusyumdan tamamen çıkarılabilmesi için gereklidir ve yaşamın 7 ile 12. aylarında tamamlanır. Bu yaştan önce yapılan kastrasyon işlemi bu yapışıklığın kalıcı olmasına neden olur (Root ve ark. 1996).

Yavru erkek kedilerin yaşamlarının 9. haftasında glans penis yüzeyindeki uzun çukurlar belirgin hale gelir ve 9 ila 13 hafta arasında ise buradan yine androjene bağlı olarak penil dikenler patlak verir (Ives ve ark. 1975) Yapılan bir çalışmada, 2 yaşındaki erkek kedilerdeki preprostatik ve penil üretranın çapı, 7 haftalıkken ve 7 aylıkken kastre edilmiş veya kastre edilmemiş erkek kedilerinkinden farklı olmadığı görülmüştür (Root ve ark. 1996).

Testisler kedilerde doğumdan önce, diğer çoğu memelilerde de olduğu gibi, abdominal kaviteden ve inguinal kanaldan geçerek skrotuma inerler. Tunika albuginea tarafından sıkıca çevrelenmiş olan her iki testis de abdominal kaviteden viseral (lamina parietalis, tunica vajinalis) ve paryetal (fascia spermatica interna) peritoneum katmanlarıyla beraber gelirler (Scott ve Scott 1957; Crouch 1969).

Bu nedenle skrotum boyunca yapılan bir ensizyonla testiküler parankime ulaşıncaya kadar fasiya spermatika interna (tunika vajinalis communis), vajinal kavite, lamina paryetalis tunika vajinalis (tunika vajinalis propriya) ve tunika albuginea katmanlarından geçilir (Reighard ve Jennings 1935; Crouch 1969).

Potansiyel bir boşluk olan ve peritoneal kaviteyle birlikte devam eden vajinal kavite, lamina tunika vajinalis ve fasiya spermatika interna arasındadır. Normal yavru kedilerin testisleri doğumla beraber iner ve pubertaya kadar (7-10 ay) inguinal kanalda aşağı yukarı serbestçe hareket eder (Scott ve Scott 1957; Sojka 1980). Yavru erkek kedilerde doğum esnasında testislerin toplam ağırlığı 20-58 mg arasındadır (Reighard ve Jennings 1935; Scott ve Scott 1957).

Daha yaşlı yavrularda sütten kesme zamanında her iki testisin toplam ağırlığı ortalama 100 mg değerinde bulunurken, hayatın 12. haftasında 130 mg ve 20. haftasında ise bu değer yaklaşık 500 mg'a erişmektedir. Daha sonra testislerin toplam ağırlığı, vücut ağırlığı ile doğru orantılı olarak artar. Bir erkek kedide (5 kg ağırlığında) kaydedilen en yüksek kombine testis ağırlığı 4 gramdır (Scott ve Scott 1957). Olgunlaşmamış bir kedi testisinde toplam seminiferöz kanal uzunluğu 22,8-25,8 metre değerleri arasında ve toplam ağırlıkları da 800-940 mg olarak rapor edilmiştir (Bascom ve Osterud 1925). Kedilerde seminiferöz kanalların çapları doğum anında yaklaşık 60-90 mikrometre, 20 haftalıkken 110 mikrometre ve hayatın 30-36. haftaları

arasında 130-175 mikrometre değerleri arasında bulunmuştur ve spermatozoonlar da identifiye edilmiştir (Scott ve Scott 1957; Sanchez ve ark. 1993).

Kastre edilmemiş yavru erkek kedilerde doğum sonrası epididimislerin gelişimi oldukça hızlıdır, toplam ağırlıkları doğum esnasında 14 mg, sütten kesilme zamanında 200 mg ve hayatın 20. haftasında 500 mg olarak rapor edilmiştir (Scott ve Scott 1957).

Kısırlaştırılmamış bir erkek kedi üreme organı olarak boynuzsu dikenlerle kaplı bir penise, doğumundan kısa süre sonra skrotum içine doğru inen iki adet testise, prostat ve glandula bulboüretralise sahiptir (Johnston ve ark. 2001).

2.3.2. Dış Üreme Organları

2.3.2.1. Penis

Skrotumun ventralinde bulunan penis her iki yanda bulunan iki tane korpus kavernozum penis ve medialde bulunan korpus spongiosum penisten meydana gelir (Reighard ve Jennings 1935; Crouch 1969). Kısırlaştırılmamış yetişkin erkek kedilerde penisin sonu serbesttir, glans penis sayıları altı veya sekiz arasında değişen halka şeklinde sıraların üzerine sıralanmış, 0,5-1,0 mm uzunluğunda, konik yapılı ve kaudale doğru dönük 120 ile 150 arasında androjene bağımlı penil dikenler ihtiva eder (Aronson ve Cooper 1967; Ives ve ark. 1975; Watson ve Glover 1993).

Bu dikenciklerin tam gelişimleri pubertayla birlikte başlar 6-7 aylık yaşta tamamlanır. Penil dikenciklerin uzunlukları 0,75-1,0 mm arasındadır (Christiansen 1984). Histolojik olarak penil dikencikler, kedinin dilinde bulunan papillalarda olduğu gibi kornifiye bir epitelyum ile kaplı bağ dokusundan oluşur (Sekiguchi 1960; Aronson ve Cooper 1967). Penisin distalden 4 mm'lik bölümü pürüzsüzdür, bu durum prepubertal dönemdeki ve kastre edilmiş erkek kedilerin penislerinin tamamında gözlemlenir. Yetişkin erkek kedilerin kastrasyonunu takiben bu penil dikencikler 5-6 hafta içinde regrese olarak saç kılı yapısına benzeyen bir yapıya geriler. Kastre edilmiş ve penil dikenciklerini kaybetmiş olan yetişkin erkek kedilere eksojen olarak uygulanan androjenler dikenciklerin yeniden gelişmesine neden olur ve bu durum uygulamanın kesilmesiyle yeniden geriler (Aronson ve Cooper 1966). Penil dikenciklerin çiftleşmedeki fizyolojik rolleri bilinmemektedir, erkek ve dişi için seksüel stimülasyonun sağlanması amacıyla, penisin vajinadan çıkmasını engellemek için veya vajinal stimülasyonun artması amacıyla var oldukları gibi nedenler ileri sürülmüş ancak en favori görüş vajinaya temasla ovulasyonu indükledikleri yönünde gelişmiştir. Dikenciklerin çiftleşme esnasında dişi vajinasına yaptığı uyarımlarla LH salınımını stimüle ettiği düşünülmektedir (Hewitt 1998).

Penil dikenlerin varlığı erkek kedilerde testis dokusu varlığının veya testosteron uygulamasının bir göstergesidir (Johnstone ve ark. 1994). Penil dikenciklerin doğum sonrası gelişimi, erişkin erkeklerdeki görünümü, kastrasyon sonrası, kastre edilmiş erkek kedilerde testosteron propiyonatla tedavi sonrası, aynı anda perepubertal ve postpubertal olarak kastre edilmiş kedilerdeki testosteron propiyonat tedavileri kesildikten sonraki durumları olmak üzere incelenmiştir. Penil dikenciklerin kondisyonları ile kedilerin cinsel aktiviteleri ve östrustaki dişilerle çiftleşme test verileri arasında bir korelasyon bulunmuştur. Tüm testlerde androjen seviyesi arttığında penil dikenciklerin boyutlarının arttığı ve androjen seviyesi düştüğünde penil dikenciklerin boyutlarının azaldığı görülmüştür. Penil dikenciklerin küçülmesiyle cinsel davranışlar arasında her zaman tutarlı bir ilişki olmayabilir, bazı kastre edilen erkeklerde penil dikenciklerin boyutları küçülmeden önce de seksüel davranışlarda azalma görülmüş, bazı kastre edilmiş erkek kedilerde ise penil dikencikler kaybolduktan sonra uzun süre cinsel aktivite devam etmiştir. Penil dikenciklerin kaybı çiftleşme sırasında cinsel uyarımın azalmasına neden olabilmektedir (Aronson ve Cooper 1967). Yetişkin erkek kedilerde glans penis içinde 3-5 mm uzunluğunda bir os penis bulunabilir. Köpek ve kedilerde penis ile beraber adı os penis olan bu kemik, erkeğin tam ereksiyona erişmeden önce penisini vajina içine sokmasına yardım eder. Köpekteki kadar derinde gelişmemiştir. Glans penis koniktir ve bölümlenmemiştir (Christiansen 1984). Beş erkek kedide seksüel uyarılma esnasında ereksiyon halindeki penisin ortalama uzunluğu 21,2±2,0 mm ve ortalama penis çapı 5,1±0,5 mm olarak saptanmıştır (Watson ve Glover 1993). Kedilerde cremaster kası yoktur, ancak dış anal sfinkter kasından köken alan ve skrotal septum üzerinden eklenen bir çizgili kas olan muskulus levator skroti'ye sahiptirler (Fletcher 1974).

2.3.2.2. Prepusyum

Erkek kedilerde penis, bağımsız bir prepusyum kılıfı tarafından örtülüdür (Christiansen 1984).

2.3.2.3. Testisler

Yetişkin erkek kedilerde testisler küremsi oval yapıda, yaklaşık her ikisi de 1,5× 1,0×1,0 cm boyutları arasında, kombine ağırlıkları 2-4 g ve anüsün ventralinde lokalize olmuş, skrotum adı verilen keseleri içinde bulunan organlardır (Scott ve Scott 1957). Oniki ve ondört haftalık yaşta skrotum içinde kalıcı pozisyon alırlar (Christiansen 1984).

Evcil kedilerin testisleri histolojik olarak seminifer kanallardan ve bunların arasındaki boşlukları neredeyse tamamen dolduran interstisiyel hücrelerden (Leydig hücreleri) meydana

gelmiştir (Bloom 1954). Testislerde üç ana hücre tipi vardır; LH stimülasyonuna cevap olarak testosteron salgılayan intertisiyel hücreler, seminifer kanalların içini kaplayan, östrojen ve inhibin salgılayan ve spermatidlerin uzamasına yardım eden sertoli hücreleri ve seminifer kanallar içinde bulunan germ hücreleridir (spermatogonia, primer ve sekonder spermatosit, spermatidler, spermatozoa) (Burgos ve Fawcett 1955; Saccini 1952). Kedilerde intertisiyel hücrelerin görünümleri ve sayıları neonatal (testosteron salgılayan fötal hücreler) dönemden bebeklik dönemine (androjenik aktivite yoktur) ve pubertal dönemden yetişkinliğe (yetişkin-testosteron sekresyonu) geçerken değişir (Sanchez ve ark. 1993).

Testisler peritondan skrotuma etraflarında bir tunika vajinayla beraber inerler ve erkek kedilerde nisbeten vücuda daha yakındırlar (Hewitt 1998). Yavru kedilerde testisler genellikle doğumla skrotuma iner ve yaklaşık 5. aylıkken Leydig hücrelerinin olgunlaşmasıyla 6.-7. aylarda seminiferöz kanallarda spermatozoonlar gelişmeye başlarlar (Christiansen 1984).

2.3.2.4. Epididimis

Histolojik olarak duktus deferens lümenini oluşturan bir mukozal yüzey, bir tunika muskularis ve dış yüzeyi oluşturan serozal bir yüzeyden meydana gelen, başlangıcında kıvrık yapıda ve inguinal kanala yaklaşımında daha düz yapıda bir oluşumdur. Kedi duktus derefensi, prostatik üretrada sonlanmadan önce ampullasını ve kas tabakasını (*tunica muscularis*) kaybeder (Aitken ve Aughey 1964). Vaz deferens'in son kısmındaki epitelyal hücreleri, spermatozoa ve diğer yabancı partikülleri fagosite edebilir ve bu fagositoz yeteneği testiküler androjen mevcudiyetinden bağımsızdır (Murakami ve ark. 1984a; Murakami ve ark. 1984b). Kedi epididimislerinden alınan spermatozoaların %50'sinin progessif motiliteye ve %50'sinin de normal morfolojide oldukları görülmüştür (Goodrowe ve Hay 1993). Kedilerde spermatik kord duktus deferens, testiküler arter, ven ve lenf kanalları ile testiküler arter üzerinde bulunan bir sinir pleksusundan meydana gelir. Testiküler ven, venöz pleksustan doğar, spermatik kordun distalinde testiküler arteri çevreleyen ve sarmal oluşturan pampiniform pleksus, testis ve epididimislere doğru soğuk kan akımını gerçekleştirerek, testislerin skrotum içinde, çekirdek vücut ısından daha soğuk kalmasını sağlar. Spermatik kord vajinal tunika tarafından viseral ve pariyetal katmanları aracılığıyla örtülür ve bu sayede vajinal kaviteden ayrılır (Fletcher 1974).

2.3.2.5. Duktus Deferens

Vaz deferens veya duktus deferens tunika vajina içinden geçer ve testislerden penise spermatozoa taşınmasını sağlar (Hewitt 1998). Duktus deferensin prostata girdiği yerde dilatasyon (ampulla) yoktur (Fletcher 1974).

2.3.2.6. Skrotum

Skrotal deri incedir ve ter bezleri ihtiva eder. Subkutan yağ yoktur. Termoregülatör mekanizma testislerdeki ısının artmasına engel olarak seminiferöz epitelyumun zarar görmesini engeller (Hewitt 1998).

2.3.3. İç Üreme Organları

Aksesuar bezler hemen hemen bütün türlerde spermatozoonlar ejaküle edilirken ejakülatın hacmini attırmak için salgı yaparlar (Hewitt 1998).

2.3.3.1. Prostat

Prostat bezi hem köpekte hem de kedide bulunmaktadır. Ejakülatın hacminin artırılmasında ve sulandırılmasındaki rolü çok önemlidir. Prostat bezinin sekretinde laktat, kolesterol ve enzimler bulunmaktadır.

Kedi prostatı 2 mm çapındadır, sağ ve sol olmak üzere iki eşit simetrik loba bölünmüştür. Kedi prostatı, köpekte olduğunun aksine üretranın ventral yüzünü kaplamaz (Christiansen 1984).

Evcil kedilerde prostat, üretranın dorsalinde yaklaşık 1 cm uzunluğunda ve sidik kesesinin boyun kısmına laterallere doğru yaklaşık 2-3 mm genişliğinde, iki adet kranial ve iki adet kaudal dört küremsi lobdan oluşan bir organdır (Cullen ve ark. 1983). Histolojik olarak kedi prostatı değişik çaplarda ve sekretuvar epitelle kaplı olan tubuler yapılardan oluşan bir bezdir. Prostat loblarından üretral kas içine küçük lobüller uzanmaktadır (Aitken ve Aughey 1964). Kedi prostat sıvısının histokimyasal incelenmesi yapıldığında bu sıvının protein-lipid kompleksi ile çinko ve asit fosfatazdan oluştuğu görülmüştür (Aitken ve Aughey 1964; Aughey 1970; Aughey 1973). Kedi prostatı androjenden etkilenen bir organdır ve kastrasyonu takiben atrofiye olur. Estrone (E1)'un olgunlaşmamış erkek kedilerin prostat glandular epitelyumlarında hipertrofiye neden olduğu rapor edilmiştir (Starkey ve Leathem 1939).

2.3.3.2. Glandula Bulboürethralis

Erkek kedideki majör eklenti üreme bezi prostat değil glandula bulboüretralistir. Bu bez penis tabanın kranio-lateralinde bulunur ve 4×3 mm çapındadır. Köpeklerde bulunmaz. (Christiansen 1984).

Bulboüretral bezler iki adet 5 mm çapında, bezelye şeklinde bulbus penisin dorsolateralinde simfiziste yer alırlar ve basit kanallarla penis kökünden üretraya açılırlar (Reighard ve Jennings 1935; McEntee 1990).

Vezikula seminalis bezi hem erkek kedide hem de erkek köpekte yoktur (Christiansen 1984).

2.3.4. Erkek Kedilerde Reprodüktif Fizyoloji

Erkek reprodüktif sistemi 3 değişik fizyolojik fonksiyonu yerine getirir. Bunlar; testislerde spermatozoaların üretilmesi ve olgunlaştırılması, depolanması ve kanal sistemine taşınması ile penis vasıtasıyla spermatozoaların dişi üreme organında biriktirilmesidir. Reprodüktif sistemin üç ayrı önemli rolü daha vardır. Spermatozoaların üretiminin kontrolü, erkeksi vücut formunun geliştirilmesi, davranışların oluşturulması ve artırılmasıdır (libido ve agresyon) (Hewitt 1998).

2.3.4.1. Spermatogenezis

Spermatogenezis; spermatogonyalardan, sayıları değişmeden korunarak, spermatozoa formasyonu oluşuncaya kadarki dönüşümler sürecidir (Hewitt 1998). Spermatogenezis erkek kedilerde 20 haftalık iken başlar ve 30 hafta civarında spermatidler testisler içinde belirgin olarak görülür. Leydig hücreleri 3 aya kadar inaktif olarak kalırlar. Yaşamlarının 5. ayında yavru kedilerin spermatojenik hücreleri, erken spermatogenezis için yeterli olgunlukta olsa da, spermatozoaların seminifer kanallarda bulunabilmesi için 1-2 ay geçmesi gerekir (Scott ve Scott 1957). Erkek gametleri veya sperm hücreleri testislerin seminiferöz kanallarında ve germinal epitelyumda oluşur. Sperm formasyonunun erken dönemleri sırasında her primer spermatosit diploid kromozom sayısına sahiptir (Beaver 1992). Bu primer spermatosit iki mayotik bölünme geçirerek kromozom sayısı yarıya iner. Bu ortaya çıkan hücreye spermatid adı verilir. Fertilizasyon sonrası zigotun normal diploid kromozom sayısına sahip olabilmesi için spermatozoa, olgunlaşmasını tamamlamadan önce bu kromozom sayısını yarıya, haploid sayıya düşürmek zorundadır (İleri ve ark. 1998).

Spermatogenezis, hipotalamustan salgılanan GnRH'ın etkisiyle hipofizde oluşan Gonadotropik kompleks hormonlarının (FSH-LH) denetimi altında bulunur. LH (ICSH) testisin interstisyel dokusunda bulunan Leydig hücrelerini uyararak androjen yapımını stimüle eder. Kan ve lenf yoluyla tubulusların lumenine gelen testosteron ve dihidrotestosteron gibi androjenler, FSH'nın etkisiyle Sertoli hücrelerinden salgılanan Androjen Binding Protein

(ABP) ile birleşir ve oluşan bu yeni kompleks germinatif epitelyum hücrelerini uyararak spermatogenezisin başlamasını sağlar. Androjenler hipotalamusa ve hipofize yaptıkları uyarımla (feed back) LH salınımını kontrol ederler (İleri ve ark. 1998).

2.3.4.2. Spermatositogenezis

Başlangıçta nisbeten ayırt edilemeyecek durumda ve seminiferöz kanalların bazal membranları boyunca lokalize olmuş kök hücre spermatogonyalar çoklu mitoz geçirirler. Bu, seminifer kanalların bazal kompartmanı içinde gerçekleşir. Spermatositogenezis; hem primer spermatositlerin siklik olarak üretimini hem de kök hücre sayısının korunmasını sağlar. Buna ek olarak, bu proliferatif havuzun yanı sıra, burada bulunan spermatogonyalar radyasyon ve toksinlere karşı son derece dirençlidir. Yine bu hücreler, testislerin maruz kaldığı ağır travmalardan sonra bile hayatta kalmaktadırlar (Hewitt 1998). Testis hasarına bağlı olarak değişen derecelerde olmak üzere, oluşan hasarla ejakülatta anormal spermatozoit görülmesi arasında 30-60 gün vardır (Hochereau-de-Reviers ve ark. 1990). Sürecin geri kalan bölümünde adlüminal kompartmanda primer spermatositler mayoz geçirerek sekonder spermatosit haline gelirler. Ardından daha fazla mayoz geçirerek spermatidler oluşur (Hewitt 1998).

2.3.4.3. Spermiyogenezis

Son morfolojik değişime spermiyogenezis adı verilir. Küresel şekildeki spermatidler farklılaşarak olgun spermatidler haline gelir ve seminifer kanal lümenlerine spermatozoa olarak atılır. Spermatogenezis değişik aşamalarda devam ederken, gelişen gamet seminifer kanalların bazal membranından lümene doğru ilerler (Hewitt 1998).

2.3.4.4. Spermiyasyon

Germ hücrelerinin spermatositogenezis ve spermiyogenezis süreçlerinden sonra seminifer kanal lümenine atılması süreci spemiyasyon olarak bilinir. Salınan germ hücreleri artık spermatozoa olarak adlandırılır.

Sertoli hücreleri gelişme süreçleri esnasında germ hücreleri ile ilişkidedir. Bu ilişkinin bazı değişik türlerde germ hücrelerinin gelişim evrelerine göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Spermatogenezis esnasında sertoli hücrelerinin rolü, destek ve beslenme sağlamak, atık ürünleri fagosite etmek ve temel luminal sıvıyı salgılamaktır.

Leydig hücreleri de spermatogenezise destek olurlar. İnterstisiyal hücre kompartımanı seminifer kanalları testosterondan zengin bir sıvıyla çevreler. Ek olarak seminifer kanalların sınır doku hücreleri olan myoid hücreler spermatozoanın ve seminifer kanallar içindeki sıvının

itici hareketine yardımcı olurlar. Leydig ve Sertoli hücreleri gibi myoid hücreler de testiküler büyüme faktörlerinden etkilenirler.

Seminiferöz kanalların enine kesitlerini histolojik olarak görüntülediğimiz zaman değişik organizasyon şekilleri gözlemlenebilir. Bu şekillerin değişik değişik görünmesi germ hücrelerinin tip morfolojilerine, hangi gelişim evresinde olduklarına ve hücrelerin kanallar içinde katmanlar halinde oluşları ile ilgilidir. Her katman, germ hücrelerinin farklı gelişim evrelerinden hücreleri içerir ve tubüllerin lümenine yaklaştıkça her bir katmanda bu değişik gelişim evrelerindeki hücreler görülebilir. Seminifer epitelin derinliği boyunca, herhangi bir noktasında bu germ hücrelerinin her tipi sıralı olarak görülür (İleri ve ark. 1998). Bu seri dizilim spermatojenik siklus olarak adlandırılır. Bir siklus aralığı da spermatojenik döngü süresi olarak adlandırılır. Bu siklusun uzunluğu köpeklerde 13,8 gün gündür. Spermatogenezisin gerçekleşebilmesi için ortalama gerekli süre 62 gündür. Erkek kediler için bu konuda kesin bir bilimsel veri yoktur ancak ortalama olarak benzer sürelerde gerçekleştiği kabul edilir (Hewitt 1998).

Herhangi bir zamandaki seminifer tubüller boyunca germ hücrelerinin gelişiminin mekânsal sıralaması spermatojenik dalga olarak da bilinir. Bu mekânsal düzenleme; spermanın sürekli salınımına, hücrelerin gelişim evrelerindeki belli aşamalar için hormon ve metabolitlerin kullanımındaki rekabetin azaltılmasına, tubüllerde eşzamanlı olarak gerçekleşen spermiyasyon esnasında kanallarda oluşabilecek tıkanıklığın azaltılmasında ve tubüllerde sperm olgunlaşmasının ve taşınmasının kolaylaştırılmasına fayda sağlamaktadır (Hewitt 1998).

2.3.4.5. Epididimal Transport, Olgunlaşma ve Depolanma

Seminifer tubüllerden gelen spermatozoa rete testis ve vaza efferensiya'dan geçerek epididimise gider. Burada son olgunlaşma aşamasından geçerek motil hale gelir, membran değişikikleri olur ve sitoplazmik damlacığını kaybeder. Olgun spermatozoa epididimisin kuyruk kısmında depolanır. Spermatozoalar ejakülasyon esnasında vaz deferens'ten geçer ve onlara çeşitli aksesuvar organ sekretlerinin eklenmesiyle sperma şekillenir. Sırasıyla prostat ve bulboüretral bez erkek kedilerdeki önemli eklenti üreme bezleridir. Spermatozoanın dişi genital organındaki gösterdiği değişiklik ise kapasitasyon ve oositin döllenmesi için gerekli olan akrozomal reaksiyondur (Hewitt 1998).

2.4. Erkek Kedilerde Reprodüktif Endokrinoloji

2.4.1. Hipotalamustan Salgılanan Hormonlar

2.4.1.1. GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon)

Erkek reprodüksiyon fizyolojisi; hipofiz bezinin anteriyorundan salgılanan iki gonadotropin olan LH ve FSH tarafından kontrol edilir. Gonadotropin sekresyonu GnRH'nın pozitif yönde kontrolü altında gerçekleşir. GnRH; hipofiz gonadotropinlerinin plazma membranlarındaki spesifik reseptörlere bağlanarak LH ve FSH salınımını stimüle eder. GnRH; testosteron ve onun aktif metabolitleri olan östradiol ve dihidrotestosteronun da negatif feedback kontrolü etkisindedir. Negatif feedback etkinin hem hipotalamik hem de hipofiziyal düzeyde oluştuğu düşünülmektedir. Bu karmaşık sistem; hipotalamusun, sentral sinir sistemi, hipofiz ve testislerle arasındaki ilişkiyi sağlar ve düzenler. Ayrıca testosteronun lokal olarak aromatizasyonu, östradiol üretiminin negatif kontrolüne neden olur. Negatif feedback sistemi iki ayrı gonadotropin olan LH ve FSH salınımı üzerinde de etkilidir. Bu durum klinik girişimler söz konusu olduğunda reprodüksiyonun modifikasyonu üzerine etkili olacak ajanı seçmekte son derece önemlidir. Buna rağmen FSH ve LH konsantrasyonlarında her zaman orantılı bir artış olmaz. Sonuç olarak inhibin adı verilen bir inhibitör faktörün hipofizden gelen FSH salgısı kontrolünden sorumlu olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca sertoli hücrelerinin diğer ürünlerinin FSH salınımı üzerine zıt ve stimulant etkileri olabilir. Testislerin hipofiz bezi üzerine olan negatif feedback etkisi, kastrasyon sonrası yükselen LH ve FSH konsantrasyonlarının tespiti ile kanıtlanmıştır. GnRH'nın Leydig hücreleri üzerine olan stimulatör etkisi eksojen GnRH uygulamalarının plazma testosteron düzeylerini artırmasıyla gösterilmiştir. Bu durum hipofizin ve Leydig hücrelerinin işlevselliği için test olarak kullanılabilir.

LH salınımı; GnRH stimülasyonunu takiben hızla ve geçici olarak adım adım yükselir. Daha sonra bazal seviyeye düşer ve periferal dolaşımdan hızla temizlenir. Köpeklerde rastgele incelen 24 saatlik dilimlerde 5 ile 20 adet LH salınımı tespit edilmiştir. Leydig hücrelerinin testosteron üretimi LH salınımından (dalgalanmasından) yaklaşık olarak 50 dakika sonra gerçekleşir (Hewitt 1998).

2.4.2. Hipofiz Ön Lob'undan Salgılanan Hormonlar

2.4.2.1. FSH

FSH; endojen testosteron ile beraber, seminiferöz kanallarda sertoli hücrelerini stimüle ederek germ hücrelerine destek olur. Bu durum spermatogenezise yardım eder ve özellikle de

spermatid gelişiminde rol oynar. Sertoli hücreleri üzerinde bulunan FSH reseptörleri muhtemelen seminiferöz kanallardaki spermatogonya'dan sorumludur. FSH'nın reseptörlere bağlanması adenil siklaz aktivitesinin stimülasyonu ile sonuçlanır. Bu da ABP ve transferrin etkisiyle gelişen spermatogenezisin düzenlenmesinde çok önemli rol oynayan proteinlerin üretiminin artması, FSH ve inhibin'in feedback kontrolü ve muhtemelen Leygid hücrelerinin fonksiyonlarının yerine getirilmesinde etkili olur. FSH'nın spermatogenezin başlatılmasında gerekli olup olmadığı bilinmemektedir. LH gibi FSH sekresyonu da dalgalıdır. Ancak bu sekresyon GnRH'nın stimülasyonundan sonra hemen ve daha kademeli olarak oluşur. Bu dolaşıma nisbeten daha küçük amplitüdler çizen bir miktarlar olarak yansır.

Prolaktin'in LH ile baraber sinerjik etki oluşturarak Leydig hücrelerinin testosteron üretimini düzenlediği düşünülmektedir. Prolaktin reseptörleri Leydig hücreleri üzerindedir. Spermatogenezis spermatid yapım aşamasına geldiğinde, inhibin üretimi, FSH sekresyonuna negatif feedback etki oluşturur. FSH sekresyonu testislerin Sertoli hücreleri tarafından salgılanan estradiol ve inhibin tarafından hem stimüle edilir hem de inhibe edilir (Sirett ve ark. 1986).

Sertoli hücreleri FSH'yı bağlayan tek testis hücresidir. FSH spermatogenezisi sertoli hücreleri üzerine etki ederek indirekt olarak stimüle eder, bunu da germ hücrelerin gelişimi için gerekli ortamı sağlayarak yapar. Sertoli hücrelerinin normal işlevliliği önemli oranda, testosteronun testislerdeki yüksek konsantrasyonuna ve daha sonra da periferal dolaşımdaki testosteron varlığıyla ilişkilidir. Sertoli hücrelerinin fonksiyonu, ilişkide oldukları germ hücrelerinin hangi gelişim aşamasında olduğuna göre farklılık gösterir. Sertoli hücreleri de salgıladıkları maddeler (substanslar) aracılığı ile steriyogenezis ve spermatogenezisin kontrolünden sorumludur. ABP'nin ya seminiferöz kanallardaki testosteron konsantrasyonunu artırmakta ya da testosteronun epididimise transportunda etkili olduğu düşünülmektedir. İnhibin; hipofiz ön lobuna FSH üretimini engelleyerek ve sonrasında da dolayısıyla spermatogenezisi baskılamak şeklinde etki edebilmektedir (Hewitt 1998).

2.4.2.2. LH

LH testislerin interstisiyel hücrelerinden testosteron sekresyonunu uyarır. LH konsantrasyonu, yüksek konsantrasyonda sirküle olan LH ve testosteron tarafından inhibe edilir (Goodrowe ve ark. 1989).

LH salınımı dalgalıdır o yüzden tek bir örnekten elde edilen değerler anlamsızdır. Ancak seri numune alımları sonucunda yapılacak ölçümler bu gonadotrpinin gerçek refleksleri ve

sekresyonu hakkında doğru bilgi verebilir. LH ve testosteron düzeylerinde mevsimsel değişiklikler bildirilmiştir. Bu iki hormonun salınımları arasında ilişki olmasına rağmen mevsimsel değişimler birbirinden bağımsızdır. Erkek kedilerde LH sekresyonu değerleri 3-29 ng/ml arasında bulunmuştur. Testosteronun dalgalı salınımlarının 6 saatlik dilimlerde değerlendirilmesi sonucu kan serum miktarlarının 0,3-11,4 mmol/l (0,1-3,3 ng/ml) değerleri arasında değiştiği görülmüştür.

Eksojen olarak uygulanan GnRH dozları, klinisyenlere hipofizden LH ve testislerden testosteron salınımı ile ilgili test yaparak bilgi edinme kolaylığı sağlar. Normal erkeklerde eksojen olarak GnRH uygulamasından 30 dakika sonra LH, 60 dakika sonra da testosteron salgılanmaktadır (Hewitt 1998).

Gonadektomize edilmiş erkek kedilerde aralıklı LH aktivitesi 20-30 dakika aralıklarla rapor edilmiştir (Johnson ve Gay 1981). Kedilerde mediyal preoptik alanın ve mediyan bazal hipotalamusun elektriksel uyarımı LH sekresyonunu arttırır (Sirett ve ark. 1986).

2.4.3. Gonadlardan Salgılanan Hormonlar

2.4.3.1. Testosteron

Testosteron sekresyonu hem lokal olarak gerçekleşir hem de genel dolaşıma katılır. Periferal dolaşıma katılan testosteron ikincil cinsel karakterlerinin gelişmesi, seksüel davranışların oluşması ve gonadotropin salınımının negatif kontrolü için gerekirken, lokal olarak sekresyonu spermatogenezisin meydana gelebilmesi için önemlidir (Hewitt 1998).

İstirahat halindeyken kısırlaştırılmamış yetişkin erkek kedilerde yapılan ölçümlerde plazma testosteron konsantrasyonları <0,5 ng/ml ile >20 ng/ml değerlerinde ölçülmüştür (Carter ve ark. 1984; Wichmann ve ark. 1984; Tsutsui ve ark. 1990)

Yetişkin erkek kedilerin testiküler venlerinden elde edilen kanların plazmalarından yapılan ölçümlerde testosteron konsantrasyonları 23,2 ile 36,8 ng/ml değerlerinde rapor edilmiştir (Tsutsui ve ark. 1990). Erkek kedilerde testosteron salınımı aralıklıdır (Johnstone ve ark. 1994; Tsutsui ve ark. 1990). Her bireye göre de oldukça değişken derecede dalgalanmalar görülmektedir. Üreme mevsimi serum testosteron konsantrasyonu üzerine pozitif etki yaparken (Tsutsui ve ark. 1990), anestezi yapılmasının serum testosteron düzeylerini düşürdüğü rapor edilmiştir (Carter ve ark. 1984; Johnston ve Bancroft 1988).

Serum testosteron konsantrasyonunun, istirahat halindeki ölçülen değerleri çok değişken ve salınımı aralıklı olduğu için, testislerin maksimum testosteron salgılama

kapasitesinin klinik olarak değerlendirlebilmesi amacıyla, testosteron sekresyonunun maximum düzeyde uyarmak için LH benzeri etki yapan hCG uygulaması ve/veya endojen LH salınımını stimüle eden GnRH uygulamaları yapılır (Goodrowe ve ark. 1985). Altı yetişkin erkek kedinin istirahat halindeyken <0,5 ng/ml ile 3,0 ng/ml olan serum testosteron değerleri, 250 IU HCG'nin IM olarak uygulanmasından 4 saat sonra 3,1-9,0 ng/ml aralığında ve 25 mikrogram GnRH'ın IM olarak uygulanmasından 1 saat sonra 5,0-12,0 ng/ml aralığında saptanmıştır (Johnstone ve ark. 1994).

HCG veya GnRH stimülasyon testleri kriptorşid şüphesi olan hayvanlarda gizli bir abdominal testis varlığını ortaya çıkarmak için de kullanılabilir. Kastrasyon işlemi erkek kedilerde serum testosteron düzeyinde hızlı bir düşüşe neden olduğundan, kısırlaştırılmamış kedilerde bu hormon düzeyinin başlangıcının testis orjinli olduğu düşünülmektedir (Johnstone ve ark. 1994; Aughey 1973).

Yetişkin erkek kedilerde androstenedion'un ortalama plazma konsantrasyonları 0,31-0,69 ng/ml değerlerinde, testiküler ven değerleri ise 7,8-25,7 ng/ml aralığında rapor edilmiştir (Tsutsui ve ark. 1990). Plazma androstenedion konsantrasyonlarının kastrasyonla tamamen suprese edilememesi bu hormonun başka bir kaynağının (adrenal bez gibi) daha olduğunu düşündürmüştür. Kısırlaştırılmamış kedilerde periferal kanda ortalama plazma 5 alfa dihidrotestosteron düzeyleri 0,03-0,70 ng/ml değerleri arasında ve testiküler ven kanından alınan örneklerde ise 6,4-25,7 ng/ml düzeyleri arasında ölçülmüştür (Tsutsui ve ark. 1990).

Ancak bazı araştırıcılar rastgele seçimlerle araştırmalarına dahil ettikleri sağlıklı kedilerden alınan spermaları muayene etmiş ve bunların %40'ından azını teratospermik ve %60'dan fazlasını normospermik bulmuşlardır. Teratospermik olanların alınan kan numunelerinde kan FSH ve LH seviyeleri normal olarak tespit edilirken, testosteron seviyeleri düşük bulunmuştur. Bu da teratospermi ile kan testosteron seviyeleri arasında bir korelasyon olduğunu düşündürmüştür (Kutzler ve Wood 2006).

2.4.3.2. İnhibin

Testisler içinde testosteronun yüksek konsantrasyonlarda bulunabilmesi kısmen de sertoli hücreleri tarafından üretilen ABP (Androjen Binding Protein) tarafından gerçekleştirilir (Hewitt 1998).

2.5. Erkek Kedilerde Reprodüktif Davranışlar

2.5.1. Erkek Kedilerde Puberta

Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi karnivorlarda da beslenme ve bakım koşulları, büyümeyi engelleyen hastalıklar puberta yaşını etkileyebilir. Kedilerde puberta, büyüme hızına ve doğum mevsimine bağlıdır (Kutzler ve Wood 2006).

Erkek kedilerde puberta araştırıcılar tarafından spermatogenezisin ilk başladığı veya ilk ejakülasyon zamanı olmak üzere değişik şekillerde tarif edilir. Kedilerde spermatogenezisin başladığına dair en erken histolojik kanıtlar, 20 haftalık yaşta ve testisler 1 g ağırlığa ulaştığında gözlenir (Scott ve Scott 1957).

Genç kedilerde sperm ejakülasyonu yaklaşık 7 aylıkken başlar fakat çiftleşme yaşını, fiziksel kondüsyon, vücut ölçüleri ve mevsim gibi faktörler etkiler. Ortalama olarak erkek kedilerde puberta 8-10 aylık iken veya vücut ağırlığı 2,5 kg'a ulaştığında başlar (Lie 1955; Sojka 1980; Goodrowe ve ark. 1989).

Bazı çalışmalarda erkek kedilerin pubertaya ulaşma süresi 6-22 ay olarak belirtilmiş ve 6 aylık erkek kedilerin üreme yeteneğine sahip olmadığı ve bunun sebebi olarak da reprodüktif organlarda meydana gelen prepuberal değişikliklerin olabileceği öne sürülmüştür (Hoskins 2001). Kontrollü olarak suni aydınlatmaya maruz bırakılan (12 saat aydınlık/karanlık peryot) erkek kediler artık mevsimsel üreme davranışları göstermezler (Beaver 1977).

2.5.2. Erkek Kedilerde Çiftleşme Davranışları

Serbest dolaşan ve östrustaki bir dişi kediye, o birini seçip kabul etmeden 12-96 saat önce birkaç erkek kedi kur yapabilir (Prescott 1973). Normal bir erkek kedi östrustaki bir dişiye yaklaşır, burnuyla burnuna dokunur ve sonra perineal bölgesine yönelir (Hart ve Voith 1977; Voith 1980). Erkek kediler bu esnada *flehmen* reaksiyonu olarak adlandırılan bir davranış gösterirler. Hafifçe ağızlarını açarlar, gözlerini kapatarak koklarlar. Dişilerin feromon reseptörleri ile erkeğin vomeronazal organları arasında bir eylem, etkileşme meydana gelir (Bland 1979; Hart ve Leedy 1987). *Flehmen* reaksiyonu, erkek kedilerdeki testosteron varlığının yanısıra, çiftleşme döneminde bu erkeklerin dişi kedilerin vajinal sekresyonlarında ve idrarlarında bulunan kimyasal uyaranlardan etkilenmesi sonucunda ortaya çıkar (Hart ve Leedy 1987). Erkek, dişinin boyun derisinin üst kısmından dişleriyle kavrar ve onu sabitler (Shille ve ark. 1983). Dişi kedinin erkeğin penisini içeri alabilecek doğru pozisyonda olabilmesi için erkek, arka ekstremiteleri ile dişinin arka kısmını aşağı doğru yönlendirerek onu uygun

konuma getirir (Hart ve Voith 1977; Voith 1980). Erkek kedilerin östrustaki dişiyi kavrama süresi ortalama 16 saniye, penisin vajinaya girişine kadar geçen süre ise ortalama 107,5 saniyedir (Whalen 1963). Erkeğin pelvik itme hareketini, yaklaşık 20 saniye süren vajinaya girme ve ejakülasyon takip eder. Erkek çiftleşme sonrasında dişinin çığlık atmasından sonra ortamdan uzaklaşır. Dişi öfke reaksiyonu gösterir ve bu reaksiyon geçtikten sonra erkek dişi ile tekrar çiftleşmeye çalışır ve 30-60 dakika içinde birçok kere çiftleşme işlemi gerçekleşir (Shille ve ark. 1983). Çiftleşme eylemi yaklaşık olarak 7 birleşmeye kadar devam eder. Cinsel bakımdan yorgun olan erkek kedi cinsel yönden yeni bir dişi tarafından yeniden aktive edilebilir (Whalen 1963). Çiftleşme, erkek henüz çevresine uyum sağlayamadıysa (çevreye alışmak 1-2 ay sürebilir), dişiyi ensesinden iyi kavrayamadıysa (anormal boyun kavrama), penil kriptler vajina içine girmeyi engelliyorsa, birleşme olması gereken zamandan uzun süre geçmesine rağmen gerçekleşemiyorsa ve pelvik itmeler uzun nöbetler halinde oluyorsa yarım kalabilir ve sonlanamayabilir (Voith 1980). Dişi kedi çiftleşme sonrası reaksiyon göstermiyorsa (post-koital reaksiyon) çiftleşme başarılı olmamıştır. Çünkü bu reaksiyon penil kriptlerin vajinayı uyarması sonucu oluşmaktadır (Linde-Forsberg ve Axner 2004). Eğer doğal kondüsyonları elverişliyse kedilerin çoğu normal şartlar altında çiftleşmek için gündüz yerine geceyi tercih ederler. Genç damızlık erkek kedilerin yetiştirilmesi için deneyimli bir dişi kedi gereklidir (Hart 1977).

Diğer memelilerde olduğu gibi erkek kedilerde de agresif davranışların normal veya anormal tipleri görülmektedir. Kedilerde erkekler arasında saldırganlık normaldir. Bu yüzden kastre edilen erkek kedilerde saldırganlık %80-90 oranında azalır. Ancak kastrasyon diğer tip agresyonlar için etkili bir engelleme yolu olmayabilir (Hart 1977).

Erkek kediler genellikle kastrasyonu takiben çiftleşme davranışlarından vazgeçerler ama bazı tecrübeli erkeklerde kastrasyondan sonraki birkaç yıl gibi uzun bir süre bu davranışlar sürebilir. Çiftleşme davranışları adrenal androjenleri ekarte etmek amacıyla üst üste bilateral adrenalektomi uygulanarak ya da bu müdahele olmaksızın kısırlaştırılan kedilerde de görülür (Rosenblatt ve Aronson 1958a; Rosenblatt ve Aronson 1958b; Herron 1971)

Prepuberal olarak kastre edilen erkek kedilerde, yetişkin dönemde kısırlaştırılanlarda olduğu gibi testosteron replasman tedavisi sonrası seksüel davranışlar ve çiftleşme hareketleri görülmeyebilir. Seksüel davranışları tekrar ortaya çıkarmak için replasman tedavisi sonrasında ortamda bir dişi kedi bulundurulması gereklidir (Rosenblatt ve Aronson 1958b).

2.5.3. Erkek Kedilerde Ereksiyon ve Ejakülasyon

Erkek kedilerde; penisin ereksiyonu, spermatozoanın üretra içine emisyonu ve penis ucundan spermanın ejakülasyonu işlemleri parasempatik, sempatik ve somatik sinir kılıfları aracılığıyla gerçekleşir (Semans ve Langworthy 1938; Root ve Bard 1947). Erkek kedilerde ereksiyon, ikinci sakral sinir köklerinin parasempatik liflerinin uyarılması sonucunda meydana gelir. Lumbal 1-2 ve hipogastrik sinirin sempatik uyarımları seminal plazmanın üretra içine emisyonunu, internal pudental (parasempatik, sempatik ve somatik) sinirin uyarımı ise ejakülasyonla sonuçlanır (Root ve Bard 1947).

Kedilerde ejakülat hacmi azdır (<0,01-0,77 ml). Ancak elektroejakülasyon yöntemiyle alınan sperma hacmi genellikle suni vajinayla elde edilenden daha fazladır. Spermatozoaların toplam sayısı her bir ejakülat için 3×10^6 ile 153×10^6 arasında bildirilmiştir. Bu yoğunluk suni vajinayla alınan spermada elektroejakülatörle alınan spermadan daha fazladır. Sperma motilitesi oldukça değişkendir ve cinsel perhiz süresiyle de ilişkili olarak da motilede değişken değerler bulunabilir. Taze spermada ozmolarite; suni vajinayla toplandığında yaklaşık olarak 320 mOsm/kg'dır ve depolama süresi ile artar. Sperma alkalin fosfatazdan zengindir ve pH değeri 6,6-8,7 arasında değişir. Spermada normal spermatoza oranı %60'dan büyük olanlar normozoospermik ve %40'dan az olanlar teratozoospermik olarak sınıflandırılır. Evcil kedilerdeki sperma kalitesi ve fertilite arasındaki ilişki henüz kurulamamıştır. Spermasında %40'dan daha az spermatozoaya sahip olan kediler doğal koşullar altında iyi oranda fertiliteye sahip olabilirler (Hewitt 1998).

2.6. Erkek Kedilerden Sperma Alma Teknikleri

2.6.1. Suni Vajen

Suni vajina, 2 ml'lik bir kauçuk ve bir kauçuk ampul pipet ile küçük bir test tüpünden ibarettir ve 52°C'deki suyla doldurulmuş bir polietilen biberona yerleştirilir. Uygulayıcı suni vajinayı dişiyi aşmaya çalışan erkek kedinin erekte olmuş penisinin üzerinden kaydırır. Sperma toplama işlemi bir ile dört dakika arasında tamamlanır (haftada 3 kez kontrollü olarak toplanan spermanın hacmine ve total spermatozoon sayısı açısından haftada bir kez alınan spermaya eşdeğerdir). Suni vajina kullanılacağı zaman ise eğitimli bir erkek gereklidir. Bu eğitim bir kedi için yaklaşık 2-3 hafta sürmektedir. Ayrıca yine kızgınlıkta bir dişinin ortamda bulunması gereklidir (Hewitt 1998).

2.6.2. Elektroejakülasyon

Günümüzde birçok araştırmacı için ilk tercih edilen yöntemdir. Fiziksel nedenlerden dolayı suni vajina kullanımının uygun olmadığı ya da mevsimsel faktörlerden dolayı doğal çiftleşmenin mümkün olmadığı durumlarda oldukça elverişlidir. Ayrıca elektroejakülasyon yöntemi kızgınlıkta bir dişi gerektirmemesi, erkeğin eğitilmesine gerek olmaması ve anestezi altında rahatlıkla uygulanabilmesi gibi kolaylılarından dolayı tercih edilmektedir (Sojka 1986). Ejakülat hacmi ve elektrik uyarımlarına cevap olarak oluşan ejakülattaki spermatozoa sayısı açısından kediler arasında önemli değişiklikler vardır ve tekrarlanan anestezi ve elektrik stimülasyonları ejakülasyon kapasitesi üzerinde herhangi bir değişiklik yapmaz ve kediler üzerinde olumsuz bir etki yaratmaz. Ejakülattaki spermatozoon sayısı, elektrik uyarımlarında verilen voltaj ve bunun uygulama sayısından etkilenir ancak ejakülat hacminin voltajla bir ilgisi yoktur (Pineda ve ark. 1984; Pineda ve Dooley 1984a). Sperma osmolaritesi, yöntem ya da bireysel özelliklerden dolayı değişiklik göstermez. Fakat elektroejakülasyon (EE) ile toplanan spermanın pH değeri suni vajen (SV) ile elde edilenden anlamlı bir şekilde daha yüksektir. Alkali özellikte spermanın alınması, dış ortama maruz bırakılmasından ya da elektirik uyarımlarının eklenti üreme bezlerini stimüle etmesinden dolayı ejakülat hacminin artmasından kaynaklanabilir. Suni vajinayla alınan spermanın hacmi EE ile alınandan daha düşük olduğu ancak içerdiği spermatozoa sayısı bakımından daha fazla bulunduğu bildirilmektedir (Dooley ve Pineda 1986). Sperma toplanması esnasında farklı anestezi protokolleri bildirilmiştir. En sık kullanılan madde ketamine HCl'dür ve tek başına ya da medetomidine'le beraber kullanılır. Rapor edilen ketamine HCl dozu im olarak uygulanan 25-33 mg/kg/vücut ağırlığı veya 80 mcg/kg medetomidine ile kombine edilen 5 mg/kg s.c. ketamin dozudur (Baran ve ark. 2004; Platz ve Seager 1978; Johnstone 1984; Howard ve ark. 1990; Axner ve Linde-Forsberg 2002). EE ile sperma toplama işlemlerinde medetomidine'in 100-150 mikrogram/kg dozlarda sc olarak ve tek başına kullanıldığı durumlarda ejakülat başına düşen spermatozoon sayısında artış görülmüştür (Zambelli ve ark. 2004). Dooley ve ark. (1991), EE esnasında kayda değer bir miktar spermatozoanın sidik kesesi içine retrograd bir akışı olduğunu rapor etmişlerdir ve bu retrograd akış normal çiftleşme ve SV kullanıldığı durumlarda da görülmüştür. Bu nedenle retrograd akış elektrik uyarınlar esnasında ya da anestezi protokolünden kaynaklanan bir etki değildir ve kedilerde normal ejakülasyonun bir parçasıdır.

Elektroejakülatörle sperma alma işlemleri esnasında en sık görülen komplikasyonlar sperma kalitesiyle ilgilidir, kedinin sağlığı üzerine herhangi bir etkisi yoktur. Sperma kalitesinin

düşmesi, sperma alınırken eklenti üreme bezlerinin elektroejakülatörle aşırı uyarılması, spermatozoa içermeyen ejakülatın artmasına ve spermanın mesane içine retrograd hareketinin bir sonucudur. Sonuncu etki de ksilazin'in anestezik ajan olarak kullanılmasıdır. Medetomidine'in ketaminle indüklendiği anestezi protokolünde spermatozoa yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir (Kustritz ve Root 2010; Johnstone ve ark. 2001).

2.6.3. Vajinal Lavaj

Pratik bir yöntem değildir ve klinik kullanım için uygun değildir. Bu yöntemin birtakım dezavantajları vardır. Vajinal lavaj sedasyon gerektirir ve lavaj sırasında kullanılan sıvının ve vajinal akıntıların spermaya karışması sonucu sperma kalitesi olumsuz yönde etkilenir. Lavaj %0,9'luk NaCl solüsyonu ile yapılır. Suni vajina ile spermanın toplanmasının mümkün olmadığı durumlarda ve elektroejakülatörle bazı mevsimlerde sperma alınamaması durumlarında kullanılabilir (Hewitt 1998).

2.6.4. Epididimisden Spermatozoon Elde Edilmesi

Spermatozoalar kastrasyon sonrası kauda epididimisten de elde edilebilir veya toplanabilir. Epididimal kanalın yıkanması ya da kauda epididimisin kıyılmasıyla spermatozoonlar elde edilebilir (Hewitt 1998). Ayrıca, duktus deferns ve kauda epididimisin bir medyumla yıkanması aracılığıyla da spermatozoonlar toplanabilmektedir (Niva ve ark. 1985). Bu yöntemle elde edilen spermatozoonlar sıklıkla IVF veya suni tohumlama çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu yöntemler uygulanması basit yöntemler olmasına rağmen rutinde kullanılamazlar çünkü aynı erkekten bir defadan fazla spermatozoa toplama işlemi yapılamaz (Zambelli ve ark. 2004). Ancak araştırma amaçlı sperma toplanması veya nadir bulunan ve evcil olmayan kedilerin tutuldukları ortamlarda ölmeleri sonucunda spermalarının toplanabilmesi için tek ve en pratik yöntemdir (Hewitt 1998).

2.7. Erkek Kedilerden Spermatolojik Özellikler

Spermanın değerlendirilmesi işlemi; spermanın rengi, hacmi, motilitesi, konsantrasyonu ve ejakülattaki toplam spermatozoon sayısı ile normal morfolojili spermatozoon yüzdesinin belirlenmesi işlemlerini kapsamaktadır. Açık renkli alınan spermalar spermatozoon sayısındaki düşüklüğün göstergesi, sarı renk ise idrarla kontaminasyonun belirtisidir. Sperma hacmi sperma alma tekniğine göre değişkenlik gösterebilir (Kustritz ve Root 2010; Johnstone ve ark. 2001).

Yukarıda belirtilen parametreler rutin spermiyogram gibi değerlendirilir, gerektiğinde membran bütünlüğü, pH, ozmolarite, sperm kültürü ve seminal sıvı kimyasallarının

belirlenmesi açısından değerlendirmeler de yapılabilir (Zambelli ve ark. 2004). Kedi ejakülatının hacmi çok az olduğundan diagnostik prosedürler diğer hayvanlarda olduğundan daha zordur (Sojka 1986).

Sperma krem-beyaz renkte ve homojen görünümdedir. Diğer renkler bazı patolojileri veya idrar kontaminasyonunu akla getirmektedir. Sperma hacminin belirlenmesinde 100 mikrolitreye kalibre edilmiş otomatik pipetler kullanılır (Platz ve Seager 1978). Motilite, yüzde (%) motilite (0-100) ve ileri yönlü motilite (0-5) olarak faz-kontrast mikroskopta subjektif olarak değerlendirilir (Platz ve Seager 1978; Howard 1992; Howard ve ark. 1993). Sulandırılmamış sperma ısıtma tablalı bir mikroskopta ×100-400 büyütmede değerlendirilmelidir (Zambelli ve ark. 2004).

2.7.1. Hacim

Kedilerdeki sperma hacmi 0,01-0,7 ml'ler arasında ve ejakülattaki toplam spermatozoon sayısının hesaplanabilmesi için gereklidir (Kustritz ve Root 2010; Johnstone ve ark. 2001).

2.7.2. Motilite Muayenesi

Motilite muayenesi, spermanın alınmasından hemen sonra değerlendirilmelidir. Bir damla sperma lam yüzeyine konur ve lamel ile üstü kapatılır ve motil spermatozoonların yüzdesi değerlendirilir. İleri yönlü hareketlilerin %70'den fazla olması normal sayılmalıdır. Kedilerde fertilite ve motilite hızı arasında bir korelasyon bildirilmemiştir (Kustritz ve Root 2010; Johnstone ve ark. 2001).

2.7.3. Spermatozoon Yoğunluğu

Spermayı 1/100 oranında dilüe etmek için 1 kısım sperma (0,1 ml) ve 9 kısım formal buffer saline solüsyonu (0,9 ml) ile seyreltilir ve sperma 1:10 oranında dilüe edilmiş olur. Bu solüsyondan alınan 1 kısım ise tekrar 9 kısım formal buffer saline solusyonu ile karıştırılarak sperma 1:100 oranında sulandırılmış dilüe edilmiş olur (Kustritz ve Root 2010; Johnstone ve ark. 2001).

2.7.4. Spermatozoon Morfolojisi

Genellikle morfolojik bozuklukların artışı, düşük motilite oranı ve fertilizasyon yeteneğinde azalmayla beraber gözlenir. Morfolojik bozuklukların değerlendirilmesinde eozin-nigrozin boyama tekniğinden yararlanılabilir (Kustritz ve Root 2010).

Morfolojik incelemeler primer ve sekonder defektli spermatozoaları normallerinden ayırır. Baş kısmındaki defektler, çift başlılık, çift orta kısım, çift kuyruk, proksimal sitoplazmik damlacık defekti ve kıvrık orta kısım gibi defektler primer defektlerdir ve spermatogenezis sırasında oluşurlar. Sekonder defektler preparat hazırlanması sırasında veya bir enfeksiyon varlığında gözlenebilir. Kopuk baş, distal stoplazmik damlacık ve kıvrık kuyruk bu tür defektlerdir. Normal morfolojili spermatozoit oranı %44-71 arasında bildirilmektedir. Bir erkek kedi subfertil ya da infertil olduğuna karar vermeden önce tekrarlı olarak alınan örneklerden spermatolojik incelemeler yapılmalıdır. Araştırmalar tekrarlı olarak yapılan incelemelerde sekonder defektlerin yüzdesinde değişiklikler olabileceğini göstermiştir (Kustritz ve Root 2010).

2.7.5. PH

Kedi spermasının pH değerleri 6,6-8,7 değerleri arasında ölçülmüştür (Hewitt 1998).

2.8. Erkek Kedilerde Kısırlaştırma Yöntemleri

Erkek kedilerde fertilitenin engellenmesinin endikasyonu, pet populasyonunun azaltılması, vahşi kedi populasyonlarının kontrol edilmesi ile bu türlerde reprodüktif faaliyetlerin ve idrarla işaretleme gibi davranışların istenmeyen sonuçlarının giderilmesi girişimlerini içerir. Bu amaçla kullanılabilicek yöntemler; cerrahi kastrasyon, vazektomi, intraepididimal olarak uygulanan ve skleroza neden olan ajanlar (kimyasal vazektomi) ve progestojen uygulamalarıdır.

2.8.1. Cerrahi Kısırlaştırma Tekniği

2.8.1.1. Cerrahi Kastrasyon

Cerrahi kastrasyon erkek kedilerde fertilitenin önlenmesi için en yaygın kullanılan yöntemdir. Kolay uygulanması, etkili, irreverzible bir yöntem olması ve reprodüktif hormonların neden olduğu agresyon ve idrarla işaretleme gibi davranışları kısa sürede tamamen ortadan kaldırması nedeniyle tercih edilmektedir.

Genel anestezi altında 6 haftadan büyük erkek kedilere uygulanan bu yöntemde yavrular operasyon öncesi 4 saat aç bırakılırlar. Pediatrik hasta oldukları için, cerrahi müdahale esnasında ve sonrasında sıcak su battaniyesi üzerinde tutulmaları sağlanır. Anestezi etkilerinin devam ettiği ancak ayağa kalkabilecek durumdaki yavru kedileri hipoglisemi ve hipotermiden korumak amacıyla çok az miktarda yemek verilebilir (Faggella ve Aronsohn 1993; Root 1995).

Standart açık kedi kastrasyon tekniği, testislerin üzerinden skrotum, subkutanöz doku ve pariyetal tunika vajinanın ensizyonunu kapsar. Pariyetal tunik vajina kavranır, testisten ayrılır ve eksize edilir. Spermatik kord bir ligatürle kendi üzerine ya da duktus deferens ve spermatik damarlara bağlanır. Yavru kedilerde (6-14 haftalık) dikiş ile ligasyon tercih edilir. Çünkü bu yaşlarda spermatik kord ve damarlar çok hassasdır. Spermatik kord ligatür ya da düğümün distalinden kesilerek testisler uzaklaştırılır. Skrotal ensizyonlar dikilmez (Boothe 1993). Kastrasyon çoğu erkek kedide cinsel davranışların hemen elimine edilmesini sağlar. Ancak bazı deneyimli erkekler kastre edilmelerine rağmen ereksiyona ulaşabilmekte ve östrusdaki dişilerle çiftleşebilmektedirler (Rosenblatt ve Aronson 1958b). Bir çalışmada daha önce cinsel deneyimleri olmayan 6 erkek kedi kastrasyondan sonraki 1 hafta süresince çiftleşme davranışlarını sergilemişlerdir. Oniki deneyimli erkek kediden 4 tanesi boyun kavrama, ısırma ve pelvik friksiyon hareketine 5 hafta devam ederken, 4 erkek kediden biri östrustaki kedilerle 1,5 yıldan fazla süre boyunca çiftleşmiştir (Rosenblatt ve Aronson 1958b; Voith 1979). Prepuberal kastrasyon istenmeyen seksüel davranışların ortadan kaldırılmasında veya engellenmesinde etkili bir yöntemdir (Gerber ve ark. 1973; Herron 1972). Kastrasyon erkek kedilerde serum testosteron konsantrasyonunu ölçülemeyecek bir düzeye (< 0,05 ng/ml) indirmektedir (Hart 1979; Johnstone ve ark. 1984).

2.8.1.2. Cerrahi Preskrotal Vazektomi

Kedilerde preskrotal vazektomi anestezisi altında skrotumun kranialinden 1,5-2,0 cm ventral linea albaya doğru yapılan ensizyonla, her iki duktus deferense çift ligatür konularak cerrahi olarak bir bölümünün uzaklaştırılmasıyla yapılır (Pineda ve Dooley 1984b; Downes 1969; Norsworthy 1975). Deriye ensizyon yapıldıktan sonra spermatik kordların identifikasyonu amacıyla testisler nazikçe kaudale çekilmeli ve vaza defensiya küt diseksiyonla izole edilmelidir (Wildt ve ark. 1981).

2.8.1.3. Laparaskopik Vazektomi

Alternatif olarak, duktus deferensler batın içinde laparoskop yardımıyla identifiye edilerek, bipolar forseps ve elektrokoagülatör yardımıyla yakılır ve tıkalı hale getirilir (Wildt ve ark. 1981). Preskrotal vazektomi uygulamasından 49 gün sonra, intraabdominal elektrokoagülasyonla duktus deferenslerin kapatılması işleminden ise 120 saat sonra kedilerin ejakülatlarında canlı spermatozoonlar bulunmuştur (Pineda ve Dooley 1984b; Wildt ve ark. 1981).

Vazektominin, yetişkin erkek kedilerde çiftleşme özelliği ve libido üzerine bir etkisi yoktur. Laparoskopik elektrokoagülasyonu takip eden 7-11. aylarda yapılan histolojik incelemelerde ise bazı erkek kedilerin epididimis ve duktus deferenslerinde spermatosel oluşumları gözlemlenmiştir (Wildt ve ark. 1981).

2.8.2. Cerrahi Olmayan Kısırlaştırma Teknikleri

2.8.2.1. Hormonal Kısırlaştırma Teknikleri

Fertilitenin ve üremenin baskılanması için diğer bir alternatiftir. Eksojen steroid hormon uygulamaları, fertiliteyi direkt olarak ya da hipofizden gonadotropin sekresyonunu inhibe ederek veya engellemek yoluyla baskılar (ağırlıklı olarak LH) (Neumann ve ark. 1976).

Bu yöntem insanlarda ve hayvanlarda kontrasepsiyon amaçlı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Sentetik progestinler (megestrol asetat, medroksiprogesteron asetat ve proligeston) ve androjenler (miboleron ve danazol) veteriner hekimlikte steroid seks hormonlarının etkilerini kontrol etmekte ve testosteron veya östrojenden kaynaklanan davranışsal problemlerin kontrol edilmesinde kullanılmaktadır. Bu hormonlar sadece kısa süreli kullanılabilirler. Günlük ya da haftalık aralıklarla oral ya da enjeksiyon yoluyla verilebilirler (Kutzler ve Wood 2006).

2.8.2.1.1. Progestinler

Spermatogenezis FSH ve LH hormonları tarafından regüle edilir. Eksojen olarak uygulanan progestinler erkeklerde, gonadotropin sekresyonunu baskılar ve böylece spermatogenezise zarar verir. Erkek köpeklerde megestrol asetat'ın 2 mg/kg dozda oral yolla 7 gün boyunca uygulanması sperma kalitesinde herhangi bir değişikliğe neden olmazken, yüksek dozlar (4 mg/kg) sadece minör sperm anormalitelerine neden olmuştur. Bununla birlikte, MPA'nın 20 mg/kg dozda s.c. uygulamaları (3 gün içinde) hızlı bir yanıt oluşmasına neden olmuş, sperm motilitesinde, morfolojisi ve yoğunluğunda önemli derecede azalmaya yol açmıştır (England 1997). Bu hızlı yanıt araştırıcılar tarafından progestinlerin epididimal spermatozoal olgunlaşma ve transportu üzerine direkt etkisiyle açıklanmıştır. Bununla birlikte MPA 4 mg/kg veya 10 mg/kg dozda uygulandığında spermatozoon kalitesi üzerine olumsuz etkiler görülmemiştir (England 1997; Wright ve ark. 1979).

Progestinler kedilerin seksüel davranışlarının ve idrarla işaretlemelerinin engellenmesinde alternatif olarak kullanılmaktadır ancak bunların spermatozoon kalitesi üzerine etkileri bilinmemektedir (Hart 1979; Gerber ve ark. 1973; Jochle ve Jochle 1975).

Delmadinone asetat'ın (DMA) 0,25-1,0 mg/kg/gün dozda oral yolla 7-14 gün veya 10-20 mg/kg dozunda s.c. yolla uygulanması 3-7 gün içinde kedilerde evde idrarla işaretleme davranışlarını ortadan kaldırdığı görülmüştür. Tedaviden sonraki 3-12 aylar arasında bu davranışlar yeniden geri dönmüştür (Gerber ve ark. 1973). Klormadinon asetat ve megestrol asetat'ın tek doz 5 mg veya DMA'nın 2,5 mg dozda oral yolla haftada 1 kez verilmesi iki kedide cinsel isteği tam olarak kontrol etmiştir. İlaçların etkilerinin 36 saatten az bir sürede başladığı ve tedaviyi takip eden 8-10 günde etkilerini kaybettiği görülmüştür. Medroksiprogesteron asetat'ın 2,2-11,0 mg/kg s.c. veya i.m. yolla kullanımının erkek kedilerdeki cinsel davranışları engellemekte kullanıldığı ve spermatogenezisi olumsuz etkilediği rapor edilmiştir. Ancak, tedavi sonrası spermatozoon sayıları bakımından yapılan nicel çalışmalar yoktur (Hart 1974; Hart 1979). Kronik progestin uygulamaları erkek kedilerde diabetes mellitus, meme hipertrofisi, meme neoplazisi gibi istenmeyen yan etkilere yol açabilir. O yüzden ilaçlar bilinçsizce ya da uzun süreli kullanılmamalıdır (Hart 1979; Henik ve ark. 1985).

2.8.2.1.2. Androjenler

Progestin uygulamaları spermatogenezisi güçlü bir şekilde kesintiye uğratmaz. Eksojen androjen uygulamaları bundan daha etkilidirler. Testosteron esterlerinin 5 mg/kg dozda s.c. yolla uygulanması (testosteron proprionat 0,6 mg/kg, testosteron fenilproprionat 1,2 mg/kg, testosteron isokaproat 1,2 mg/kg, testosteron dekanoat 2,0 mg/kg) tedaviden 3 hafta sonra sperm motiltesinde önemli bir düşüş meydana getirmiştir ve bu etki 3 ay kadar sürmüştür (England 1997). Metiltestosteron'un erkek köpeklerde 90 gün boyunca günlük olarak 50 mg dozda oral yolla uygulanması spermatozoon üretimini azaltmıştır (Freshman ve ark. 1990).

Danazol'ün kronik uygulamaları 17-alfa etinil testosteronun sentetik derivesi erkek köpeklerde spermatojenik özelliklerde düşüşe ve azospermiye yol açmıştır. Bu etkiler 60 gün içinde geriye dönmüştür (Dixit ve ark. 1975b). Anti-androjen uygulamaları spermatogenezisi geçici ve hafif olarak etkilemiştir (Neumann ve ark 1976).

Prolaktinin eksojen olarak intramusküler olarak uygulanması (600 mikrogram/kg haftada 1 kez 6 ay boyunca) erkek köpeklerde 6 hafta içinde şiddetli astenozospermi, teratozospermi ve oligo- veya azospermiyle sonuçlanmıştır. Prolaktin uygulanan köpeklerde 3 ay sonunda yapılan testiküler biyopside belirgin bir şekilde seminiferöz tubüllerde dejeneratif değişiklikler görülmüştür. Üç ay içinde uygulanan ilacın geri çekilmesiyle spermatozoon sayısı normale dönmüş, çiftleşmeler gebelikle sonuçlanmış ve yeni doğanlarda herhangi bir gelişme

anormalliği gözlemlenmemiştir. Prolaktin tedavisiyle testosteron, LH ve FSH'nın serum konsantrasyonlarında dikkate değer bir değişiklik olmamıştır (Shafik 1994).

2.8.2.1.3. GnRH Agonistleri

GnRH agonistleri (Deslorelin, Suprelorelin, Gonazon) erkek ve dişi köpeklerde kontrasepsiyon amaçlı kullanılmaktadırlar. Bu agonistler implant olarak da uygulanabilmektedir ve etkileri geri dönüşümlüdür. Gerekli olan kimyasal, yeterli dozda implant tarafından yavaş olarak salgılanır. İmplantlar düzenli olarak değiştirildiğinde (Suprelorelin her 6 ayda, Gonazon her 12 ayda bir kez) infertiliteyi muhafaza etmektedir.

Reprodüktif hormonlar olarak adlandırılan FSH ve LH'nın hipofizden serbest salınmasının regülasyonu GnRH tarafından gerçekleştirilmektedir. Erkeklerde GnRH testosteron sentezini dengeleyen LH'yı ve spermatogenezisin başlaması için gerekli olan FSH'yı regüle ederken, testosteron ise spermatogenezis, sekonder seks karakterlerinin gelişebilmesi ve işaretleme, agresyon gibi davranışsal karateristiklerin oluşabilmesi için gereklidir.

Son 10 yılda eksojen GnRH preparatları üremenin baskılanabilmesi için kullanılmıştır. Sürekli GnRH'ya maruz kalmak, GnRH'nın stimüle ettiği gonadotropin salınımını uyararak GnRH reseptörlerini uyarı alamaz hale getirir ve bu etki geriye dönüşümlü bir kontrasepsiyon sağlar (Kutzler ve Wood 2006).

Deslorelin'in erkek köpek kontrasepsiyonundaki kullanımı çeşitli çalışmalarla gösterilmeye çalışılmıştır. Deri altı olarak uygulanan 6 mg yavaş salınımlı deslorelin implantları, plazma LH ve testosteron konsantrasyonlarını 4 hafta içinde kanda saptanamayacak seviyelere indirmiş ve 6 hafta içinde infertilitenin gelişmesine neden olmuştur (Junaidi ve ark 2003) ve etkisi geri dönüşümlüdür (Trigg ve ark. 2001; Duble ve ark. 1987). Testosteron ve LH konsantrasyonları ve sperma kalitesi, implant uygulamalarından 60 hafta sonra normale dönmüştür (Junaidi ve ark. 2003). Erkek köpeklerde spermatogenezisi baskılamak için gerekli deslorelin konsantrasyonu > 0,25 mg/kg dozundadır (Trigg ve ark. 2001). Uzun etkili deslorelin implantları (Suprelorin) Australya ve Yeni Zelanda'da ticari olarak kullanılmakta ve bu ürünün erkek köpeklerin %98'inde 6 ay süreyle kontrasepsiyon sağladığını bildirilmektedir. İmplantların s.c olarak uygulanmasının da herhangi bir yan etkiye yol açmadığı ve etkinliklerinin de azalmadığı belirtilmiştir (Trigg ve ark. 2004).

Deslorelin preperatına ek olarak naferelin'in 2 mikrogram/kg/gün s.c. olarak enjeksiyonu testosteronun bazal konsantrasyonunu azaltmış ve tedaviye başlanmasından 3 hafta sonra infertiliteye neden olmuştur (Vickery ve ark. 1985a). Tedaviyi bıraktıktan 8 hafta sonra ise normal fertilite görülmüştür (Goodpasture ve ark. 1988). Köpeklerde kontraseptif olarak kullanılan diğer iki GnRH agonistlerinden leuprolide asetat (1 mg/kg) ejakülat hacmini azaltmıştır. Deri altı olarak uygulanan tek enjeksiyon 6 hafta içinde serum testosteron ve LH konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltmıştır. Spermatogenezisin normale dönmesi tedaviden 20 hafta sonra olmuştur (Lacoste ve ark. 1989).

GnRH agonistleri güvenli olarak ve geri dönüşümlü kontraseptif etkileriyle vahşi etçil türlerinde de kullanılmıştır. Erkek ve dişi vahşi Afrika köpeklerinde, leoparlarda, dişi aslanlarda (Bertschinger ve ark. 2002), kızıl ve gri kurtlarda, dişi çöl (fennec) tilkilerinde ve erkek siyah ayaklı kedilerde, çitalarda (Bertschinger ve ark. 2001), kullanılan uzun etkili deslorelin implantları kiloya göre 3-15 mg etken madde olarak doze edilmiş ve 1 yıldan fazla kontrasepsiyon sağlamıştır (Bertschinger ve ark. 2002). Erkeklerde implantların yerleştirilmesinden 6 hafta sonra fertilite kesintiye uğramamış ve sonuçta uzun etkili deslorelin implantı uygulamaları reprodüktif fonksiyonları baskılamamıştır (Bertschinger ve ark. 2001). İmplant uygulamalarını takiben herhangi bir yan etki veya davranışsal değişiklikler görülmemiş ve uygulamadan 12 ay sonra hayvanlarda normal östrus ve spermatogenezis devam etmiştir (Bertschinger ve ark. 2001; Bertschinger ve ark. 2002).

2.8.2.1.4. GnRH Antagonistleri

GnRH antagonistleri, hipofizdeki GnRH resetörlerini bloke ederek gonadotropin salınımını baskılarlar. Acycline'in 110 mikrogram/kg dozda s.c. olarak uygulanması dişi köpeklerde 3 hafta içinde kısa ve ovulasyonsuz ve proöstrusa geri dönen bir östrusa neden olur ve yan etki oluşturmaz (Gobello 2007).

2.8.2.2. İmmunokontrasepsiyon

İyi bir immunokontrasepsiyonun bütün ırk, yaş ve cinsiyetlerde etkili olması, basit ve uygulanabilir olması, etkisinin çabuk başlaması ve uzun süre devam etmesi ve tek uygulama ile hayvanların büyük çoğunluğunu etkilemesi gerekmektedir.

İmmunokontrasepsiyon ya GnRH ya da zona pellusida proteinleriyle yapılan aşılamalar ile elde edilir. Bu yöntemde, infertilitenin gelişmebilmesi için vücudun kendi bağışıklık sistemi

kullanılır. İmmunokontrasepsiyon ya da immunokastrasyon olarak isimlendirilir (Kutzler ve Wood 2006).

Son yirmi yılda hem dişi hem erkek köpek ve kedilerde fertilitenin baskılanması için bir aşı geliştirilmeye çalışılmıştır. İmmunokontrasepsiyon için; GnRH ve LH reseptörleri, sperm antijenleri ve oosit zona pellusidası (ZP) kullanılmak istenmiştir. GnRH'a karşı gelişen antikor titresinin fizyolojik etkisi, aynı anda erkeklerde ve dişilerde reprodüktif davranışların ve steroid hormonlarla gonadotropinlerin sentez ve sekresyonunun baskılanması ve gonadal atrofi ve gametogenezisin durması şeklinde görülür (Ladd ve ark. 1994; Jung ve ark. 2005). LH reseptörlerine karşı oluşan antikorlar dişilerde östrus siklusunun baskılanmasına, erkeklerde düşük serum testosteron seviyelerinin görülmesine neden olurlar (Saxena ve ark. 2002; Saxena ve ark. 2003). Sperm antijenlerine karşı üretilen antikorlar zona pellusida, sperm ve oositin birbirine bağlanmasını engelleyerek dolaylı olarak infertiliteye neden olurlar (Kutzler ve Wood 2006).

İmmunokontrasepsiyon için GnRH aşılamalarının geliştirilmesi çeşitli sorunlar yüzünden problemli olmuştur (Mitchison 1971). Erkek köpeklere uygulanan tetanoz toksoidi ile konjuge edilmiş GnRH füzyon proteini, benzer bir etkiye neden olmuş ve geri dönüşümlü azalan bir antikor titresiyle seyretmiştir. Erkek kedilere uygulanan aşılama da benzer bir antikor oluşumuna neden olmuş ancak infertiliye yol açmamıştır (Ladd ve ark. 1994). Ayrıca tetanoz toksoidi ile konjuge N-terminal modifiye GnRH enjeksiyonları erkek köpeklerde infertilite ile sonuçlanmamıştır (Ferro ve ark. 2004).

İmmunokontrasepsiyon için LH reseptörleri evcil karnivorlar için başarılı bir hedef olmuştur. LH'a karşı immunizasyon, erkek köpeklerde bir yıldan fazla bir süre reprodüktif faaliyetlerin engellenmesiyle sonuçlanmıştır (Lunnen ve ark. 1974).

Sperm antijenleri de kontraseptif aşılamalar içinde en mükemmel hedeflerden biridir. Çünkü hem erkek hem de dişi immun sistemi için yabancı protein etkisi yaratmaktadırlar. Anti-sperm antikorlar hem doğurganlığı hem de fertiliteyi etkilerler. Laktat dehidrojenaz ve akrozin izole edilebilen başlıca iki sperm spesifik antijenleridir (Talwar ve Naz 1981). Bütün çalışmalara rağmen bugün sperm antijen immunizasyonu fertilitenin kontrolü için tatmin edici sonuçlara ulaşamamıştır (Naz ve ark. 2005).

Fertilizasyon, spermlerin ZP'ya bağlanmasını gerektiren karmaşık bir süreçtir. Spermler, ZP3 reseptörüne bağlanır, akrozom reaksiyonu oluşur ve akrozin enzimi sayesinde zona pellusida sindirilir ve sperm oosit'e girer ve bağlanır (Atiken ve ark. 1996). ZP'ya karşı

olan antikorlar sperm reseptörlerini bloke ederek spermatozoonun oosit'in içine girmesini bloke eder. Ancak, aynı türler arasındaki ZP proteinleriyle yapılan bu immunizasyon çalışmalarında gelişen yanıt yetersiz olarak gözlemlenmiştir. ZP3 reseptörleri, immunizasyon oluşturmak için ideal hedefler oluşturular. Aşı geliştirme çalışmalarında domuz ZP3'ü ise sürekli kullanıma uygun bulunmuştur. Bunun nedeni ise köpek ve kedi ZP3'leri ile benzerlikler göstermesidir (Atiken ve ark. 1996).

2.8.2.3. Reprodüktif Toksinler

Sitotoksik konjugatlar, enjekte edildiklerinde GnRH analoglarına bağlanan bitki toksinleridir. Bu bağlanma sonucunda hipofizde gonadotropin salgılayan hücreler inhibe olur ve dolayısıyla FSH ve LH salınımı engellenir. Toksinler, GnRH reseptörleri olmayan diğer dokular için güvenli olması anlamında dikkatle seçilmelidir. GnRH reseptörlerinin içeriye alınmasını, pituiter gonadotrop hücrelerin toksik etkiyle ligand oluşturmaları takip eder. GnRH'ya bağlanmış (konjuge) antiviral protein, erkek köpeklere 3 kez günlük enjeksiyonlar halinde (100 mikrogram/kg) uygulanmıştır. Erkek köpeklerdeki uygulamalar sonrası serum testosteron ve LH seviyelerinde düşme ve testis hacmindeki azalma gözlemlenmiş ve kontrasepsiyon etkisi 5-6 ay kadar kalıcı olarak devam etmiştir. Çok az sayıda köpekte oluşan athralji (< 24 saat) dışında herhangi bir yan etki gözlenmemiştir (Sabeur ve ark. 2003).

Ketokonazol, embelin ve alfa-klorohidrin diğer reprodüktif toksinler arasında sayılabilir. Ketokonazol köpeklerde, tavşanlarda, maymun ve insanlarda, bir hücresel bölünme ve spermatostatik etki karşıtı inhibitörüdür. Erkek köpeklere 4-24 saat içinde oral olarak uygulanan ketokonazol (50-246 mg/kg) ejaküle edilmiş sperm motilitesi üzerinde aynı deneklerden alınan kontrol örneklerine oranla olumsuz etki oluşturmuştur (Vickery ve ark. 1985b). Spermatozoon motilitesinde azalma seminal plazmadaki ketokonazol varlığı ile korelasyon oluşturmuştur. Ek olarak oral ketokonazol tedavisini takiben serum testosteron konsantrasyonun suprese edildiği görülmüştür. Ketokonazolün yüksek dozları ise gastrointestinal kanal tarafından tolere edilmemiş ve hepatoksisite gelişmesine neden olmuştur (Heiberg ve Svejgard 1981). Bununla beraber diğer imidazol bileşiklerinin oral yolla kullanıldığı deneklerde benzer spermatostatik etki oluşmasına rağmen gastrointestinal ve hepatik yan etkiler görülmemiştir (Goodpasture ve ark. 1988). Embelin (Embelia ribes) Asya'da gebeliğin önlenmesinde kullanılan bir yerli bitkidir (Dixit ve Bhargava 1983). Erkek köpeklerde embelin'in oral yolla verilmesi (80 mg/kg/gün 100 gün boyunca) testis ağırlıklarında önemli miktarda azalmaya ve değişen derecelerde post-mayotik hücre

yokluğundan kaynaklanan spermatojenik tutulmaya neden olmuştur. Embelin alımının kesilmesinden sonraki 8 aylık sürede normal spermatogenezisin oluştuğu gözlenmiştir. Embelin tedavisi herhangi bir yan etkiyle sonuçlanmamış, serum biokimya ve karaciğer histolojisi üzerine bir etkisi olmamıştır (Dixit ve Bhargava 1983). Alfa-klorodin seminiferöz tubüllerde spermatojenik yapının bozulmasına neden olan bir alkali ajandır. Erkek köpeklerde alfa-klorodin'in tek kerelik yüksek dozu (70 mg/kg) veya kronik uygulamaları (8 mg/kg-30 gün) 33 gün içinde spermatogenezisi inhibe eder. Bu etki tedaviyi takip eden 100 gün içinde geriye döner (Divix ve ark. 1975a).

2.8.2.4. İnvazif Olmayan Mekanik Yöntemler

İnvazif olmayan mekanik kısırlaştırma tekniklerinden biri de testislere yüksek frekanslı ultrasonik ses dalgalarının gönderilmesiyle spermatogenezisin baskılanabilmesi için ultrasonun ısı ve mekanik efektleri kombine olarak kullanılmaktadır. Yüksek ve yoğun frekanslı ses dalgaları genel anestezi altındaki erkek köpeklerin vaz deferens veya epididimis bölgesine yoğunlaştırılmaktadır. Uygulama 2-7 gün aralıklarla 1-2 W/cm kare dozundaki ses dalgalarının 10-15 dakika süreyle uygulanması şeklinde yapılarak bir ile üç uygulama olarak yapılmaktadır. Testosteron düzeyinde ciddi bir azalma olmadan spermatogenezis baskılanabilmektedir (Fahim ve ark. 1977). Yan etki olarak erkek köpeklerin %20'sinde skrotal deri yanıkları oluşmaktadır (Roberts ve ark. 2002a ve Roberts ve ark. 2002b).

2.8.2.5. Kimyasal Kısırlaştırma Teknikleri

İntratestiküler, intraepididimal ve intravasdeferens olarak uygulanan kimyasal sterilizanlar erkek köpek ve kedilerde cerrahi olmayan bir kısırlaştırma sağlarlar.

2.8.2.5.1. Testis İçi Enjeksiyon

Kimyasal kastrasyon erkek kontrasepsiyonu için diğer bir cerrahi olmayan girişimdir. Erkek hayvanlarda kimyasal ajanların doğrudan her iki testise, epididimise veya vas deferense enjekte edilmesi ile uygulanarak azoospermiye ve sonuç olarak da infertiliteye neden olur (Massei ve Miller 2013). Uygulamalar teknik olarak zor değildir, düşük maliyetlidir, kedi ve köpeklerde geniş bir skalada kısırlaştırma programı uygulamaya elverişlidir (Pineda ve ark. 1977). Ancak intratestiküler uygulanacak ilacın testis dışında bir organa ya da çevre dokulara verilişi ile kimyasal maddenin yüksek irritan etkisi nedeniyle doku ülserasyonlarına neden olabilir. Bu nedenle verilen kimyasal madde deneyimli veteriner hekimler tarafından dikkatlice uygulanmalıdır. Köpeklerde uygulama için sedasyon yeterli olmakla birlikte kediler için genel anestezi kesinlikle gereklidir. Öncelikle skrotal bölge kıldan arındırılırak dezenfeksiyon

sağlanmalı ve ince uç bir iğneyle testis içindeki hedef dokuya girilerek kimyasal madde enjekte edilmektedir (Kutzler ve Wood 2006).

Metallibür, deksametazon, metopiron çözeltisi, niridazol, a-klorohidrin ve danazol gibi ilaçların testis içine uygulanması, köpeklerde epididimal atrofi ve azoospermi ile sonuçlanmıştır (Dixit 1979). Köpeklerde fosfat tamponlu salin içinde %3,5 formalin veya %50 dimetil sülfoksit içinde %1,5 klorheksidin glukonat'ın kauda epididimise enjeksiyonu, sekonder testiküler atrofi, kimyasal tıkanıklık ve geri dönüşümsüz azoospermi ile sonuçlanmıştır (Pineda ve ark. 1977).

Köpeklerde kimyasal kısırlaştırma için çeşitli ilaçlar geliştirilmiştir. Arjinin tarafından nötralize edilmiş çinko glukonat (Neutersol®, Addison Biological Laboratory Inc.) ABD Gıda ve İlaç Dairesi (US FDA) tarafından 2003 yılında onaylanmıştır. Erkek köpek yavrularının kimyasal sterilizasyonu için testislere enjekte edilen bu kimyasal ajan testislerde sklerozise ve kısırlığa neden olmuştur. Neutersol®, 3 ila 10 aylık 223 erkek yavrunun %99,6'sında kısırlık yapmıştır (Wang 2012). Bu kimyasalın uygulanması sırasında genel anestezi gerekmese de, köpeğin hareketlerini önlemek için sedasyon önerilmektedir. Doğru enjeksiyon tekniği skrotum ve testislerin ağrılı şişmesi ve ülserasyonunu önlemede ve Neutersol®'ün güvenli kullanımında kritik öneme sahiptir. Neutersol® cerrahi kastrasyondan farklı olarak, testislerin alınmamasıyla testosteron düzeyinin tamamıyla ortadan kaldırılmadığı bir uygulamadır (Kutzler ve Wood 2006). Galapagos'da yapılan bir çalışmada, çinko glukonat uygulanan 103 köpeğin %3,9'unda enjeksiyon bölgesinde ciddi reaksiyonlar gerçekleşmiştir. Bazal testosteron düzeyi uygulama yapılan köpeklerde başlangıçta azalırken iki yıl sonra uygulama yapılmamış köpeklerle benzer değerlerde bulunmuştur. Aynı zamanda sekonder erkek özellikleri olarak işaretleme, saldırganlık, dolaşma ve çiftleşme devam edebilmektedir. Çinko glukonat etken maddesi içeren preperatlar günümüzde "Esterilsol®" adı altında Meksika, Kolombiya, Bolivya ve Panama'da, "Zeuterin®" adında ise (her ikisi de "Ark Sciences" New York, USA firması tarafından) Amerika Birleşik Devletlerinde (US FDA onaylı) kullanılmaktadır (Ark Sciences 2014). Orta boy bir köpek için uygulama maliyeti 15 USD'dir (ACC&D 2013). Brezilya'da benzer bir formülasyonun (Rhobifarma Indústria Farmaceutica) köpeklerde kullanılma onayı alınmıştır. Meksika'da "Esterilsol®" ile yapılan çalışmada tek doz intratestiküler yolla uygulanan 53 köpeğin 52'sinde azoospermi (spermatozoon yokluğu) ya da aspermi (spermanın yokluğu) oluşturmuştur (Esquivel-LaCroix 2006). Köpeklerin %2,6'sında kötü enjeksiyon tekniğine bağlı olarak intratestiküler enjeksiyon yapılan bölgede ülserler gerçekleşebilmekte ancak uygun

teknik ve her enjeksiyonda yeni bir iğnenin kullanılmasının bu durumu önleyeceği bildirilmektedir. Nitekim Brezilya'da köpeklerde kalıcı bir kısırlaştırma maddesi olarak kabul edilen çinko glukonatın kullanıldığı bir çalışmada intratestiküler enjeksiyon sonrasında ciddi rahatsızlıklar ve davranış değişiklikleri göstermemişlerdir (Soto ve ark. 2009).

0,2 M çinko arjinin ile nötralize edilmiş (pH 7,0) 0,2 M çinko glukonat (13,1 mg çinko/ml) içeren formülasyon Latin Amerika ülkelerinde Esterilsol® adı altında hem kedi hem de köpeklerde kullanıma sunulmuştur (Oliveira ve ark. 2012). İntratestiküler enjeksiyon için her bir köpeğin testisi için ayrı ayrı kumpas ile ölçü alınıp verilecek çinko glukonat solüsyonun miktarı bu ölçüler baz alınarak belirlenmiştir. Kimyasal madde testisin dorso-kranial'ine enjekte edilmiş ve enjeksiyon bölgesinde görülen yan etkiler 270 erkek köpekte %1,1 olarak saptanmıştır. Enjeksiyondan sonraki 2,5 aylık sürede saptanan histopatolojik bulgular seminiferöz tubullerde ve Leydig hücrelerinde tüm deneklerde fibrosis oluştuğu gözlenmiştir. Çinko arjinin 50 mg dozda (0,5 ml/testis) intraepididimal enjeksiyonu ise takip eden 90 gün içinde azoospermi ile neticelenmiştir. Histopatolojik incelemelerde normal seminiferöz kanallara sahip atrofiye olmuş rete testisler ve içinde sperm ihtiva etmeyen epididimis ve duktus deferensler gözlenmiştir (Oliveira ve ark. 2012).

Çalışmalar erkek kontrasepsiyonunda kullanılan bu modellerde rutin enjeksiyonların planlanması veya kimyasalların enjekte edilme prosedürleriyle bağlantılı olarak, enjeksiyonlar sonrası oluşan herhangi bir rahatsızlık ya rapor etmemişlerdir ya da çok düşük yoğunlukta rahatsızlık belirtisi görülmüştür. Afferent sinir uçlarıyla ağrıya duyarlı skrotal deri ya da testis kapsulasından daha çok testis ve epididimal parankim ağrıya neden olmuştur. Enjeksiyonları takip eden 24 saat içinde oluşan testis çapındaki geçici artış ve şişme ağrıyla sonuçlanmıştır ve 7 ile 15 gün arasında sürmüştür. Sonuç olarak intratestiküler enjeksiyonlar sonrasında oluşan lokal ya da sistemik reaksiyonlar skrotal ülserasyon ya da dermatitis, skrotumun hayvan tarafından ısırılması, prepusyal şişlik, kusma, ishal, anoreksi, letharji ve lökositozis'tir (Oliveira ve ark. 2012).

Tedavide bilinmesi gereken önemli bir nokta da epididimis'te rezerve olarak üretilmiş olan spermatozoon nedeniyle köpeklerin enjeksiyonlardan 60 gün sonrasına kadar fertil olabileceğidir. Ayrıca, kimyasal kısırlaştırma cerrahi yolla kısırlaştırmada olduğu gibi gonadlardan salgılanan bir steroid olan testosteronu ortadan kaldırmamaktadır (Oliveira ve ark. 2012).

Estrilsol®'ün (çinko glukonat) altı aylık yaştaki toplam 115 adet erkek kediye (0,3-0,4 ml/testis) verilmesiyle 12 ay süreyle gözlemlenmiş enjeksiyon bölgesinde herhangi bir reaksiyon saptanmamıştır. Serum testosteron düzeylerinde azalma ve testiküler atrofiyle birlikte spermatozoon gözlenmemiştir (Levy 2010).

Erkek kedilere testis genişliğini kumpas ile ölçerek 0,44-0,51 ml/testis dozda çinko glukonat (Testoblock®) testis içerisine enjekte edilmiş ve 4 ay sonra penis dikenlerinin kaybolduğu %36 (4/11) ya da azaldığı %54 (6/11) gözlenmiştir. Bir erkek kedide iyi gelişmiş penis dikenleri görülürken, kedilerin %73'ünde (8/11) azoospermi, 1 kedide nekrospermi ve 2 kedide de ise asthenospermi saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında testosteron düzeyleri normal düzeylerde saptanmış ancak bağırma, sinirlilik ve idrarla işaret bırakmada azalma görülmüştür. Erkek kedilerde Testoblock®'un kullanıldığı bir diğer çalışmada ise intra testiküler enjeksiyondan bir gün sonrası skrotumu yalama ve ısırma gözlenmemiştir. Enjeksiyon sonrası bir kedide iştahsızlık ve hareket aktivitesinde yavaşlama dışında diğer kedilerde skrotal ya da testiküler ağrı ya da hassasiyet tespit edilememiştir (Oliveira ve ark. 2013).

Erkek kedilerde kimyasal kastrasyonda testis içi kalsiyum klorür köpeklerde kullanıldığı gibi başarıyla kullanılmaktadır. $CaCl_2$ için uygulama protokolu, verilme dozu ve uygun formülasyon üzerine daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (ACC&D 2013). $CaCl_2$ enjeksiyonu testisin proksimalinden distaline doğru iğne geri çekilirken düz infiltrasyon doğrultusunda takip edilerek dikkatli bir şekilde kimyasal madde depo edilmektedir. Köpeklerde ve diğer türlerde $CaCl_2$ ile yeterince çalışma olmasına rağmen kedilerde sadece iki çalışmada testis içi $CaCl_2$ enjeksiyonu ile kimyasal kısırlaştırma yapılmıştır. Baran ve ark. (2010) her bir testise 0,2 ml farklı yoğunluklarda $CaCl_2$ solüsyonundan %0 (n=1 kedi), %5 (n=1 kedi), %10 (n=1 kedi) ve %20 (n=1 kedi) olmak üzere testis içine uygulamışlardır. Erkek kedilerden %5 ve %10 oranında $CaCl_2$ uygulananları oligospermik (<20 milyon sperm/ ml), %0 oranında uygulananda normal (>20 million sperm/ml), %20 oranında uygulanan erkek kedide ise ejakülatta hiç sperm bulunamamış ve histolojik değerlendirmede uygulama sonrası 60. günde seminifer tubullerde dejenerasyon ve kalsifikasyon ve interstisyel hücrelerde ise fibrozis gözlenmiştir (Baran ve ark. 2010).

Erkek kedilerdeki diğer bir çalışmada Jana ve Samanta (2011) her bir testis içerisine 0,25 ml hacimde %1 lidokain içeren $CaCl_2$ solüsyonunun farklı yoğunluklarından %0 (n=6 kedi), %5 (n=6 kedi) %10 (n=6 kedi) ve %20 (n=6 kedi) oranlarında enjekte etmişlerdir. %5'lik

$CaCl_2$ solüsyonu enjekte edilen grupta seminifer tubullerde atrofi ile birlikte germ hücrelerinde çözünme saptanmış ancak testisin tamamında bu etki net görülememiştir. %10'luk $CaCl_2$ uygulanan grupta seminifer epitel ve interstisyel alanlarda koagülasyon nekrozu saptanmıştır. Dejenere ve koagüle germ hücreleri tubular ve interstisyel alanlarda fibröz doku ile birlikte görülmüştür. %20'lik $CaCl_2$ uygulanan grupta ise sadece hiyalin ve fibröz doku ile germinal epitelyumun girişinde ve testisin tamamında nekroz saptanmıştır. Uygulama sonrası 60. günde %20'lik $CaCl_2$ uygulanan grupta serum testosteron düzeyi ortalama 2,15 ng/ml, %0 $CaCl_2$ uygulanan grupta ise 7,82 ng/ml olarak bulunmuştur. $CaCl_2$ enjeksiyonu testis içinde iyi tolere edilirken, enjeksiyon sonrası 1-5 dakika içerisinde orta düzeyde bir rahatsızlık olabileceği gözlenmiştir. Enjeksiyon sonrası 24 saat kadar belirgin bir şişlik, 2-4 gün içerisinde artarsa da 3-4 hafta içerisinde giderek azalmaktadır. $CaCl_2$'ün enjeksiyon yapılan noktadan geri sızması skrotal deride ve dokuda nekroza neden olabileceğinden, solüsyon dışarı sızarsa hemen silinmesi tavsiye edilmiştir. $CaCl_2$ köpeklerin yiyecek alımı, kronik stres veya kan parametreleri, testislerin şişmesi enjeksiyonu takiben 3 hafta devam etmektedir. Hayvanların davranışları ise bir ay sonra normale dönmüştür (Soto ve ark. 2009).

2.8.2.5.2. Epididimis İçi Enjeksiyon

Erkek köpekte fosfat tamponlu tuzda %3,5'luk formalin solusyonu veya %50 DMSO içinde %1,5'luk klorheksidin glukonat solüsyonu ile skleröz oluşturan maddelerin her iki epididimisin kauda kısımlarına yapılan enjeksiyonlarında, kimyasal tıkanıklık ve irreverzibl azoospermi ile sekonder testis atrofisi gerçekleşmiştir. Sadece formalinle yapılan intraepididimal enjeksiyonlarda geçici olarak azoospermi veya oligospermi oluşmuştur. DMSO içindeki klorheksidin'in bir kez bilateral intraepididimal enjeksiyonundan 91 gün sonra erkek köpeklerde azoospermi gelişirken, DMSO içindeki klorheksidin'in iki kez bilateral intraepididimal enjeksiyonu ile ise 35 gün sonra azoospermi oluşmuştur (Pineda ve ark. 1977).

Erkek kedilerde intraepididimal enjeksiyonlar kimyasal vazektomiyle sonuçlanmıştır. Kimyasal vazektomi veya epididimisin sklreozisi için kedilerin kauda epididmislerine 0,1 ml % 4,5'luk klorheksidin diglukonat kedilerin epididimislerine, anestezi altında testisler fiske edildikten sonra 27 veya 30 gauge 12,7 mm iğne ile kauda epididimisin içerisine enjekte edilmiştir. Sklerotik ajan enjekte edilen 8 kedinin (4 tanesine 0,05 ml ve 4 tanesine 0,10 ml/epididimis) 3'ünde uzun süreli oligospermi ve 4'ünde tedaviden 231-252 gün arasına kadar ejakülatta spermatozoon saptanmıştır (0,010-12,788 milyon). Fakat sadece bunlardan yalnızca bir tanesi normal sperm sayısına sahip bulunmuştur (Pineda ve Dooley 1984). Klorheksidin

diglukonatın %4,5'luk solüsyonun her iki epididimisin kuyruk kısımlarına enjeksiyonu azoospermi ya da şiddetli oligospermiye neden olmuştur. Köpeklerdekinin aksine kedilerde intraepididimal enjeksiyonları takiben spermatosel ve sperm granulomları sıklıkla görülmüştür. Ayrıca intraepididimal enjeksiyonları takiben oluşan şişlik ve ağrı iki hafta kadar sürmüştür (Pineda ve Dooley 1984).

%10'luk gümüş nitrat, etanol içinde %3,6'lık formaldehit, %5'lik potasyum permanganat, %100'lük etanol veya %3,6'lık formaldehit gibi skleröz yapı oluşturan kimyasal maddelerin vaz deferens içine enjeksiyonu aynı maddelerin intraepididimal enjeksiyonlarıyla benzer olarak irreverzibl etkiyle sonuçlanmıştır (Dixit ve ark. 1975c).

2.9. Kısırlaştırma Yöntemlerinin Cinsellik ve Genel Davranışlar Üzerine Etkileri

Erkek kedilerde cerrahi kastrasyonun istenen etkileri olarak agresif davranışları, ısırma ve idrarla işaretlemeyi ve idrardaki kokuyu azaltmasıdır (Hart 1973; Hart 1979; Bland 1979). Kırk iki yetişkin erkek kedinin kısırlaştırılmasından sonra kedilerin %88'inde agresif davranışlarda, %84'ünde idrarla işaretlemede azalma gözlemlenmiştir (Hart 1973; Hart 1979).

Prepuberal cerrahi kastrasyon genellikle idrar püskürtmeyi (işaretleme) engellemektedir (Hart 1973; Johnstone ve ark. 1984; Hart ve Cooper 1984). Yapılan bir çalışmada prepuberal olarak gonadektomize edilmiş 134 erkek kedinin %10'unun ve 152 adet dişi kedinin %5'inin, eğer evlerinde başka dişi ve erkekler varsa ergin bir kedi olduktan sonra da bu davranışı sürdürdükleri görülmüştür (Hart ve Cooper 1984). Prepuberal kastrasyonun zamanının (6-10 ay) ilerleyen yaşlarda idrar püskürtme davranışına hiçbir etkisi yoktur. Ergin erkek kedilerde kastrasyon sonrası idrar püskürtme davranışında bir düşüş gözlemlenmiştir. Yetişkin erkek kedilerin %78'inde kastrasyon sonrası idrar püskürtme davranışında hızlı bir düşüş olmuş, %9'unda ise bu davranış kademeli olarak azalmıştır (Hart ve Barrett 1973).

2.10. Erkek Kedi Cerrahi Kastrasyonunun İstenmeyen Yan Etkileri

Erkek kedilerde 7 aylıktan önce gerçekleştirilen cerrahi kısırlaştırılmalar prepusyumun penise yapışması, uzun kemiklerin epifizlerinin kapanmasının gecikmesi, azalmış kalori ihtiyacı, obeziteye predispozisyon ve operasyon sonrası komplikasyonlar oluşturabilmesi gibi istenmeyen etkilere neden olabilir (Johnstone ve ark. 2001).

Erkek kedilerde penil/prepusiyal yapışmalar memelilerde doğum sonrası meydana gelen ve androjene bağımlı bir olaydır (Herron 1970; Herron 1971). Yedi haftalık 6 adet yavru erkek

kedinin kısırlaştırılması sonrası hepsinde kalıcı adezyonla beraber penisin kılıfından çıkarılmasında yetersizlik gözlenmiştir (Root ve Johnstone 1995). Yaşamlarının 5. ayında kastre edilen 10 erkek yavru kediden 4'ünde değişken derecelerde penis ve prepusyum yapışmaları gözlenmiş, bunlardan bazıları maniple edilerek parsiyal olarak ayrılmış, diğer alanlarda ise prepusyumda yassı katlı epitelyum doku oluşumu gözlenmiştir (Herron 1970; Herron 1971). Teoride bu yapışıklıklar o bölgedeki dokuların travmatize olması ve idrar birikmesiyle ilgili olabilir ve lokal iritasyona, inflamasyona ve idrar yolları enfeksiyonlarına yatkınlığın artması gibi yan etkilere yol açtığı rapor edilmemiştir (Herron 1971)

Yedi haftalıkken veya 7 aylıkken gonadektomize edilmiş erkek kedilerde epifizial kapanma 5-7 ay gecikmektedir. Eğer karşılaştırılırsa seksüel olarak aktif olanlarda uzun kemiklerin boyu kastre edilmiş olanlardan %10 kadar daha uzundur (Root 1995; Houlton ve McGlennon 1992; May ve ark. 1991).

Erkek kedilerde kastrasyonun cerrahi komplikasyonları hemoraji, skrotal derinin morarması ve şişmesi ile ensizyon tarafında enfeksiyon oluşması sayılabilir. Spermatik kord tabanında trombotik kalıntı nedeniyle gelişen priapizm nedeniyle bir kedide penis amputasyonu rapor edilmiştir (Swalec ve Smeak 1989).

Kontrollü olarak yapılan çalışmalarda erkek kedilerde kastrasyonun üretral diameterde azalma ve beraberinde alt üriner sistem hastalıklarında artışa neden olduğu ispatlanmamıştır. Çalışmalar cinsel aktif olan erkek kedilerin üretral çapları ile pre- veya postpubertal olarak kastre edilmiş veya testosteron ikame tedavisi uygulanmış erkek kedilerin üretral çapları arasında bir fark olmadığını göstermiştir (Root 1995; Herron 1970; Herron 1972).

Erkek kedilerde eğer orşiektomi tamamlanamazsa ya da kriptorşit gibi intraabdominal testis dokusu kalıntısı varsa, reprodüktif hormonların neden olduğu davranışlar, idrarla işaretleme gibi durumlar kalıcı olur. Kalmış testis dokusu varlığının ön tanısı için, kalıcılığı androjenlere bağlı olan penil kriptlerin kalıcılığı veya GnRH'ın (25 mikrogram IM) olarak uygulanmasından 1 saat sonra veya HCG'nin 250 IU IM olarak uygulanmasından 4 saat sonra serum testosteron düzeyinin 1 ng/ml'den büyük olmasıyla yapılabilir (Johnstone 1991).

Erkek kedilerde üremenin kontrolü genellikle ülkemizde de olduğu gibi dünyada cerrahi yollarla yapılmaya çalışılmaktadır. Bu yöntemde testisler vücut dışına çıkartılmaktadırlar. Kesin ve geri dönüşümsüz bir sterilizasyon sağlamakla beraber, uygulama için deneyimli personel gerektirmesi ve operasyon sonrası enfeksiyon ve kanama oluşabilmesi gibi

dezavantajları vardır. Ayrıca geniş populasyonlar için uygulanabilmesi pratik değildir (Baran 2016).

2.11. Kimyasal Kısırlaştırmanın Avantajları

Son yıllarda cerrahi olmayan geçici veya kalıcı kısırlaştırma yöntemlerine olan ihtiyacın artmasıyla beraber kısırlaştırma tekniklerinde birtakım gelişmeler kaydedilmiştir. Kontraseptif aşılamaların ve uzun etkili progestinlerin istenmeyen etkilerinin ortaya çıkmasıyla beraber yeni stratejilerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Bilim adamları 30 yıldan bu yana yapılan araştırmalar sonucunda hala başarılı bir ticari ürün geliştirememişlerdir. İdeal bir kimyasal kısırlaştırma tekniğinin, erkek kedi ve köpeklerde, seksüel davranışların kalıcı olarak kaybolmasına ve kalıcı infertiliteye neden olması gerekmektedir. Ürünün ise ucuz, güvenlik sınırının geniş, uygulamasının kolay ve tek seferde istenilen etkiyi sağlayan bir ürün olması istenmektedir (Brown 2003).

İstenmeyen cinsel davranışları engeller (işaretleme, agresyon vb.). Ayrıca skleroz yapan ajanların testiküler parankime enjekte edilmesi, testiküler atrofiye ve görece olarak androjen konsantrasyonunun azalmasına bağlı olarak, spermatogenezisin azalmasıyla beraber androjene bağlı hastalıkların da örneğin prostatik hastalıklar, istenmeyen davranışlar (idrarla işaretleme, agresyon, ısırma) ve gonadal hastalıkların da azalmasına neden olmaktadır (Bloomberg 1996).

Avantajları;

1- Hedef organlar için güvenli, hedef olmayan organlar için ise herhangi bir zararlı yan etki oluşturmazlar.

2- Hayvanlar iyi tedavi edildiğinde yüksek başarı oranlarına sahip yöntemlerdir.

3- Kimyasal sterilizanların formüle edilmeleri kolaydır ek olarak taşınabilirlikleri ve depolanmaları kolaydır.

4- Büyük ölçekli üretime müsaittirler.

5- Ekonomik ve uygun maliyetlidirler.

6- Cerrahi yöntemlerin kullanılamayacağı şartlarda kolaylıkla ve hızla uygulanabilirler.

Bunlara ek olarak hayvan sahipleri cerrahi yöntemlerle ilgili her zaman tereddüt yaşar ve endişelenirler. Bunun sebepleri ise cerrahi yolla kısırlaştırmanın genel anestezi gerektirmesi ve operasyonlarının ağrılı olması ve ayrıca testislerin alınmasının hormonal düzeni bozmasıdır (Kutzler ve Wood 2006; Bloomberg 1996).

3. YÖNTEM

3.1. Hayvan materyali ve çalışmaya hazırlanması

Çalışmada 2-3 yaşlı, sahipli ve sağlıklı (aşılı, endoparaziter ve ektoparaziter tedavileri yapılmış) 20 adet erkek kedi kullanıldı. Çalışma öncesi her bir erkek kedinin testislerinin palpasyonla normal kondisyonda olup olmadığı ve penise ait penil (spines) dikenlerin normal gelişimlerinde olup olmadığı incelendi. Erkek kedilerin (n=20) canlı vücut ağırlıkları (ortalama 4,65±0,52 kg) gözönünde bulundurularak birey başına günlük 90-120 gr miktarında profesyonel grup kuru mama (Hill's® Science Diet Adult Optimal Care) ile beslenmeleri sağlandı.

İntratestiküler enjeksiyon, sperma, testis ölçüleri, kan ve idrar alma işlemleri genel anestezi altında gerçekleştirileceği için 12 saat öncesinden erkek kediler aç bırakıldılar. Tüm intratestiküler kimyasal uygulamalar Mart, Nisan ve Mayıs ayları arasındaki aktif üreme sezonunda gerçekleştirildi. Bu tez çalışmasının yapılmasına, İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun (HADYEK) 25.06.2009/76 kararı ile izin verildi.

3.2. Grupların oluşturulması

Dört uygulama ve bir kontrol grubundan oluşan beş farklı grup oluşturuldu. Bunlar sırasıyla;

1. **Düşük Doz Grup (DD grup):** Dört adet erkek kediden oluşan gruba; düşük doz $ZnCl_2$ (20 mg) solüsyonu 0,2 mL hacimde intratestiküler yolla her bir testise uygulandı. Çalışma grubu kedilerin ortalama vücut ağırlığı 4,69±0,40 kg'dı.
2. **Orta Doz Grup (OD grup):** Dört adet erkek kediden oluşan gruba; orta doz $ZnCl_2$ (40 mg) solüsyonu 0,2 mL hacimde intratestiküler yolla her bir testise uygulandı. Çalışma grubu kedilerin ortalama vücut ağırlığı 5,08±0,42 kg'dı.
3. **Yüksek Doz Grup (YD grup):** Dört adet erkek kediden oluşan gruba; yüksek doz $ZnCl_2$ (80 mg) solüsyonu 0,2 mL hacimde intratestiküler yolla her bir testise uygulandı. Çalışma grubu kedilerin ortalama vücut ağırlığı 4,18±0,45 kg'dı.
4. **NaCl Grup (NaCl grup):** Dört adet erkek kediden oluşan gruba; %0,9 NaCl solüsyonu 0,2 mL hacimde intratestiküler yolla her bir testise uygulandı. Çalışma grubu kedilerin ortalama vücut ağırlığı 4,21±0,19 kg'dı.

5. **Kontrol Grup (K Grup):** Dört adet erkek kediden oluşan kontrol grubuna ise herhangi bir intratestiküler solüsyon uygulaması yapılmadı. Kontrol grubu kedilerin ortalama vücut ağırlığı ise 5,12±0,91 kg'dı.

3.3. Kimyasal maddelerin hazırlanması

İntratestiküler enjeksiyonlar için hazırlanan solüsyonlarda çinko klorür ($ZnCl_2$) kuru tozu kullanılmıştır. Solüsyonun hazırlanmasında diluent olarak steril enjeksiyonluk tri distile su kullanılmıştır.

Düşük doz çinko klorür solüsyonunun hazırlanması:

Çinko klorür anhydrous	100 mg
Tri distile su q.s.p	1 mL

Orta doz çinko klorür solüsyonunun hazırlanması:

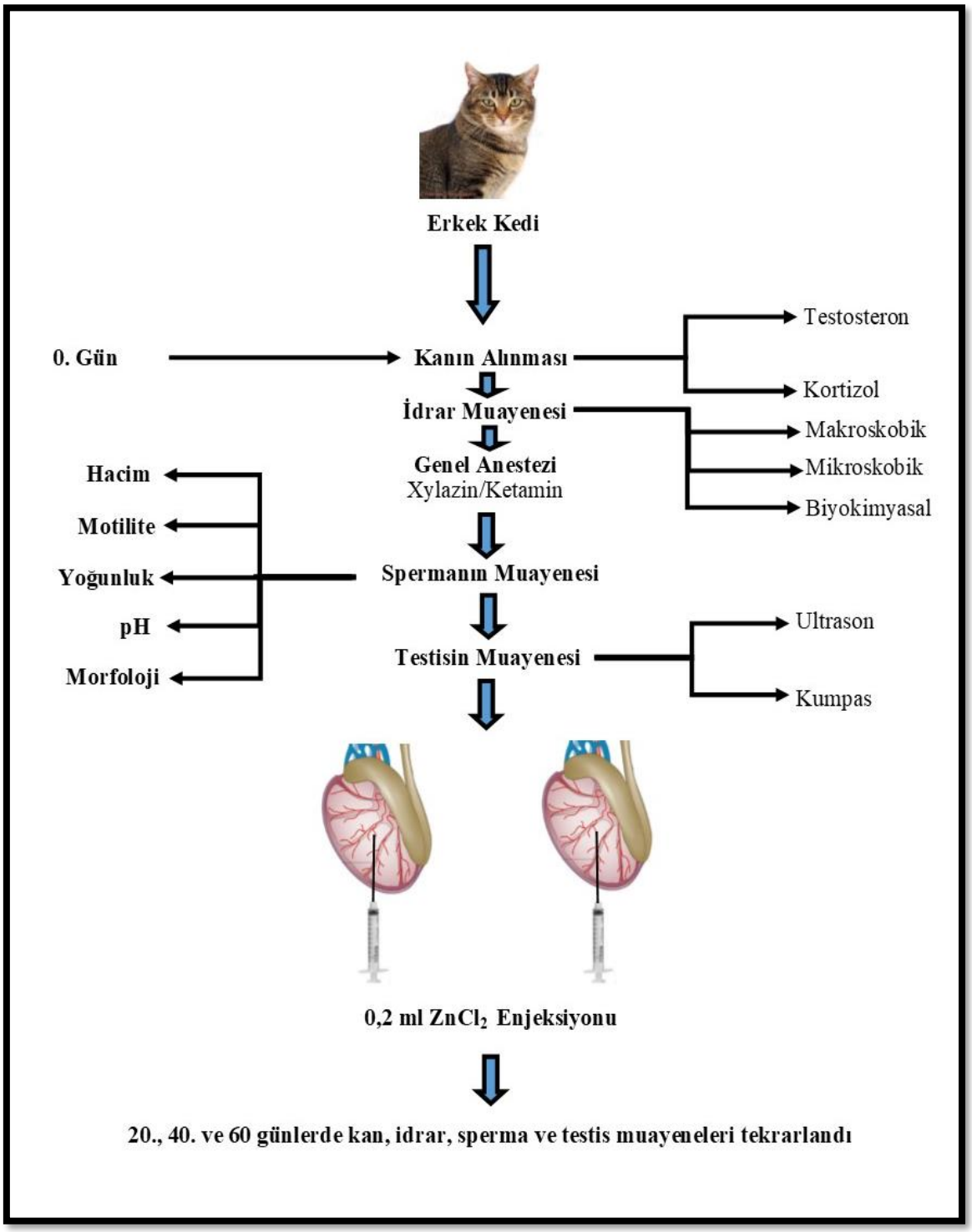
Çinko klorür anhydrous	200 mg
Tri distile su q.s.p	1 mL

Yüksek doz çinko klorür solüsyonunun hazırlanması:

Çinko klorür anhydrous	400 mg
Tri distile su q.s.p	1 mL

3.4. Çalışma protokolü

Çalışmanın protokolü aşağıdaki resimde ayrıntılı olarak özetlenmiştir (Şekil 3-1).



Şekil 3-1: Bir erkek kedi için uygulanan tüm çalışma protokolü

3.5. Kan numunelerinin toplanması ve saklanması

Testosteron ve kortizol düzeylerinin belirlenebilmesi amacıyla yeterli sedatif etki sağlandıktan sonra sağ veya sol *V. jugularis*'den 2 mL'lik steril enjektör (0,70 × 37 mm) vasıtasıyla antikoagülansız tüplere kan numuneleri alındı. Alınan numunelerin serumları santrifüjle ayrıldıktan sonra plastik eppendorf tüplere (1 mL) konuldu ve −18°C'de dondurularak saklandı.

3.6. Hayvanların anesteziye alınması

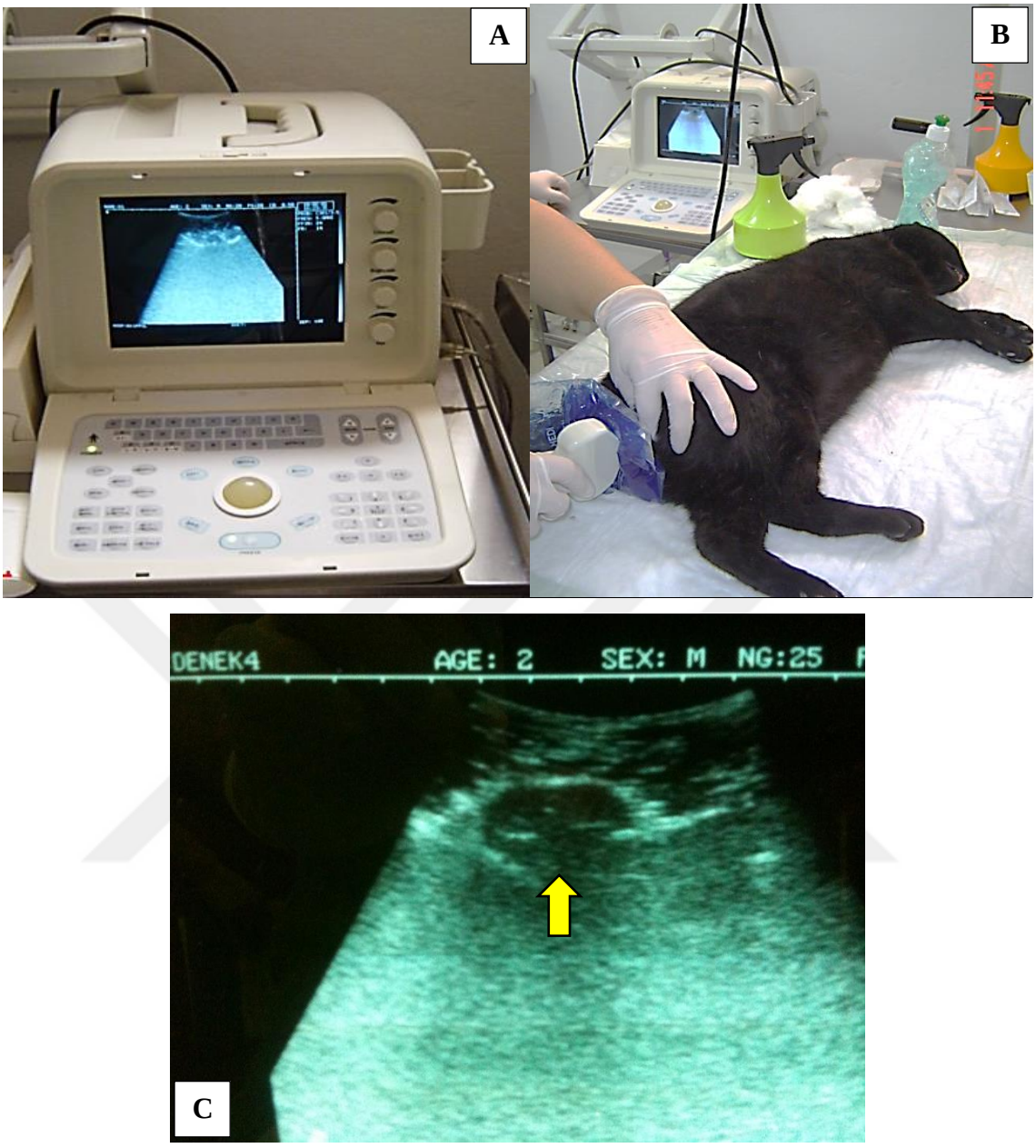
Erkek kediler ksilazin hidroklorür'ün %2'lik solüsyonundan kas içi olarak 3,5 mg/kg önerilen sedatif dozuyla sakinleştirildi. Kan alma işleminden sonra erkek kediler 4,0 mg/kg dozda ketamin hidroklorür uygulanarak genel anesteziye alındı ve elektroejakülatörle sperma alım işlemine hazır hale getirildi.

3.7. Testislerin muayenesi ve ölçümleri

3.7.1. Ultrasonografik (US) muayene

Ultrason (US), anatomik detayları iyi göstermesi, testisin fokal perfüzyon bozuklukları ile testis agenezisinde kullanılabilen vazgeçilmez bir tanı yöntemi olması nedeniyle incelemelerde kullanıldı. Farklı konsantrasyonlardaki intratestiküler kimyasal solüsyonun testis içine verilmesini takip eden günlerde (0., 20., 40. ve 60. günlerde) yapılan muayenede, uygulamaların öncesinde ve sonrasında gelişebilecek testiküler anomalilerin takibi sağlanmış oldu.

Bu amaçla, Edan EUS B model US cihazı (Şekil 3-2A) ve linear prob ve ultrason jel pedi kullanılarak testisler incelendi. Erkek kediler genel anestezi altında lateral pozisyonda masaya yatırıldı, linear prob ile testis dokusu arasına stand-off ped (ses dalgalarının organ yüzeyine çarpıp geri dönmesini kolaylaştırarak görüntünün kalitesini artırmak ve oluşan artifaktları azaltmak için) yerleştirildi (Şekil 3-2B). İncelenecek testis dokusunun derinliğine uygun frenkansta (7,5 Mhz) linear prob kullanılarak testis parankiminin yapısı ve büyüklüğü dikey ve yatay planda elde edilen kesitlerde değerlendirildi. Testisin strüktürel yapıları yatay ve dikey kesitlerde farklı dozlarda intratestiküler çinko klorür solüsyonunun uygulamasının testis dokusu üzerindeki etkilerini (testiküler atrofi ve dejenerasyon) ve testiküler büyüklüğün (uzunluk × genişlik) gelişimini belirlemek için kullanıldı. Elde edilen görüntüler (Şekil 3-2C) 0., 20., 40. ve 60. günlerde değerlendirilerek daha sonra inceleyebilmek için kayıt altına alındı.



Şekil 3-2: Ultrason cihazı (A), linear prob ve ultrason jel pedi (B) kullanılarak elde edilen normal testiküler yapının görüntüsü (C).

3.7.2. Kumpasla ile testislerin ölçümü ve hacminin değerlendirilmesi

Testislerin büyüklüğünün ölçümlenmesinde kumpas aleti kullanıldı (Şekil 3-3). İntratestiküler enjeksiyonların öncesinde (0.) ve sonrasındaki 20., 40. ve 60. günlerinde her bir erkek kedinin testis ölçüleri uzunluk × genişlik × yükseklik olarak kumpas yardımıyla sağ ve sol testisten ayrı ayrı ölçülüp kaydedildi.

Her bir erkek kedinin testiküler hacminin belirlenmesinde aşağıdaki formülden yararlanıldı;

Testiküler Hacim (TH): Uzunluk × Genişlik × Yükseklik × 0,5236 (Trautwein ve ark. 2016).



Şekil 3-3: Kumpas ile erkek kedilerin testislerinin ölçümü

3.8. Elektroejakülasyonla spermanın alınması ve uygulama protokolü

Erkek kedilerden sperma genel anestezi altında elektroejakülatör (Şekil 3-4) yardımıyla ve elektrik uyarımlarının uygulanış protokolü Howard ve ark.'nın (1990) bildirdiği tekniğe göre 3 ayrı set uygulanarak alındı. İlk set, 20 uyarım 2 V ve 10 uyarım 3 V olarak, ikinci set 20 uyarım 3 V ve 10 uyarım 4 V olarak, üçüncü set ise sadece 20 uyarım 4 V olarak uygulandı. Her bir elektriksel uyarımın uzunluğu ortalama 10 saniye sürdü ve her bir setten sonra erkek kediler 5 dakika süreyle dinlendirildi.



Şekil 3-4: Sperma alınırken kullanılan elektroejakülatör cihazı

3.9. Spermatolojik özelliklerin değerlendirilmesi

Spermatolojik incelemelerde hacim, ph, motilite (progresif), yoğunluk ve morfolojik bozukluklar incelendi.

3.9.1. Hacim

Spermanın hacmi otomatik pipet yardımıyla (10-100 µL) belirlendi.

3.9.2. Motilite

Sperm motilitesi ısıtma tablalı faz kontrast mikroskobunda ×400 büyütmede oransal (%) olarak değerlendirildi.

3.9.3. Yoğunluk

Spermatozoon yoğunluğu hemositometrik yöntemle thoma lamında 5 büyük karedeki spermatozoa'lar sayılarak mL'deki spermatozoon sayısı belirlendi.

3.9.4. Morfolojik bozukluklar

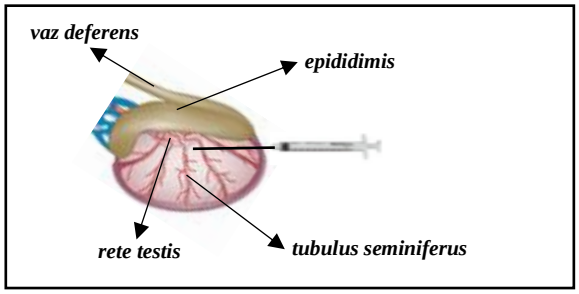
Spermanın morfolojisinin değerlendirilmesinde Spermac® Boya kiti, Baran ve ark. (2004)'nın bildirdiği tekniğe göre kullanıldı. Boyanan lam üzerindeki hücreler ×1000 büyütmede ışık mikroskobunda immersion yağı ile morfolojik bozukluklar yönünden (akrozom, baş, orta, kuyruk ve toplam) yüzde (%) olarak değerlendirildi.

3.9.5. pH

Spermanın pH'sı renk skalalı kağıt (pH indikator test strips, 1-14) ile ölçüldü.

3.10. Testis içerisine kimyasal madde uygulama protokolü

İntratestiküler enjeksiyonlar 1 mL'lik plastik tüberkülin enjektörü (27G iğne) ile uygulandı. Uygulanan bölge kaput, korpus ve kauda epididimisden uzakta, testisin kranialine doğru kauda epididimisden kaudo-ventral yönde testisin merkezine (rete testis) 0,5 cm içerisine ilerletilerek yapıldı (Şekil 3-5). İntratestiküler enjeksiyon uygulanmadan önce bölgedeki kıllar traş edilerek klorheksidin ile skrotum yüzeyine antiseptik uygulandı ve her bir erkek kedi için 0,2 mL hacimde solüsyon enjekte edildi.



Şekil 3-5: İntratestiküler enjeksiyon tekniği

Genel anestezi altında, düşük (n=4), orta (n=4) ve yüksek (n=4) doz uygulama gruplarındaki erkek kedilerin her bir testisine, daha önceden hazırlanan ve 0,2 mL'sinde sırasıyla; düşük doz için 20 mg, orta doz için 40 mg ve yüksek doz için 80 mg etken madde bulunan çinko klorür solüsyonu intratestiküler olarak uygulandı.

İntratestiküler %0,9 NaCl uygulanan gruptaki erkek kedilere (n=4) 0,2 mL %0,9 NaCl solüsyonu uygulanırken, diğer kontrol grubundaki erkek kedilere (n=4) intratestiküler herhangi bir uygulama yapılmadı.

Enjeksiyonlar testisin merkezine yavaş bir şekilde verildi ve kimyasal maddenin skrotal kese ve boşluğa temas edip fistül oluşumuna yol açmaması için baş ve işaret parmaklarıyla skrotal kese gerdirilerek tek bir noktadan giriş yapıldı ve tamamı verildikten sonra enjektör basılı halde iken hızlı bir şekilde geriye çekildi. Enjeksiyon bölgesinden solüsyonun geri akmamasına özellikle dikkat edildi (Şekil 3-6).



Şekil 3-6: Erkek kedide intratestiküler enjeksiyonun uygulanması

3.11. Histopatolojik incelemeler için testislerin cerrrahi orşiektomi tekniğiyle alınması

İntratestiküler uygulama yapılan ve yapılmayan (kontrol) gruplardaki erkek kedilere 60 gün sonra cerrahi bilateral orşiektomi yapılarak testisleri histopatolojik incelemeler için alındı.

3.12. Anestezi protokolü

Orşiektomi operasyonu öncesinde erkek kedilerin genel kan muayenesi, solunum hızı ve sayısı, kalp hızı, rektal ısı gibi yaşamsal değerler kaydedildi. Genel durumu orşiektomi operasyonuna uygun bulunan erkek kedilerin, cerrahi operasyondan 8 saat önce gıda, 2 saat önce de su içmemeleri sağlandı. Anestezi, uyluk kaslarına uygulanan ksilazin-ketamin kombinasyonu (sırasıyla; 1 mg/kg ve 10 mg/kg) ile sağlandı.

3.13. Orşiektomi operasyonu tekniği

Perineal bölgedeki tüyler tıraş edildi ve povidon iyot ve alkol içeren solüsyonlar ile bölgenin dezenfeksiyonu sağlandı. Erkek kediler derin anesteziye ulaştığında sırt üstü vaziyette yatırıldı ve ameliyat masasına ayaklarından sabitlendi ve kuyruk cerrahi alandan uzaklaştırıldı. Operasyon bölgesi tek kullanımlık steril örtü ile örtüldükten sonra tüm operasyon bölgesi alkol ve povidon iyot çözeltisi ile tekrar dezenfekte edildi.

Sol testis, operatörün baş ve işaret parmaklarıyla skrotal keseye sıkıştırıldıktan sonra deri ensizyon yapılarak tunika dartos ile birlikte eksize edildi (Şekil 3-7).



Şekil 3-7. Cerrahi orşiektomi operasyonu ile testislerin çıkarılması

Ardından eksternal spermatik fasiya da ensize edilerek ayrıldı. Açığa çıkan spermatik kord testise bağlı olduğu yerden ayrılarak testis arteri ile beraber üst üste 5 düğüm atılarak bağlandı ve testis son düğüme 1 cm mesafeden kesilerek uzaklaştırıldı. Bir hemostatik pens yardımıyla nazikçe kavranan düğüm kanama varlığı kontrol edildikten sonra serbest bırakıldı. Aynı işlem sağ testise de uygulandı.

Cerrahi orşiektomi sonrası erkek kedilere 5 gün süre ile 20 mg/kg amoksisilin ağızdan verildi. Her gün barındıkları zemin üzerindeki ped altlıklar yenisiyle değiştirildi. Skrotum bölgesi ve ensizyon yapılan dokular rivanol ile temizlendi. Yine 5 gün süreyle 24 saatte bir defa 0,1 mg/kg meloxicam verildi.

3.14. Testosteron ve kortizol düzeylerinin saptanması

Eppendorf tüplerde −18°C'de dondurulan kan numunelerinin testesteron ve kortizol düzeylerinin analizleri özel bir biyokimya laboratuvarında yapıldı.

3.15. Testislerin histopatolojik değerlendirilmesi

Orşiektomi operasyonu ile dışarıya alınan testisler sağ ve sol olarak işaretlenerek formaldehit içeren cam kavanozlara kondu (Şekil 3-8) ve daha sonra yapılacak histopatolojik değerlendirme için saklandı.



Şekil 3-8. Formaldehit içinde testisler

Histopatolojik incelemeler için testis dokusundan alınan örnekler standart Hematoksilen-Eozin (HE) boyama yöntemi kullanılarak ile İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirildi. Hazırlanan preperatlar ışık

mikroskobunda ×200 büyütmede en az 50 tubulus seminiferus ve interstisyel boşluklar incelenerek germ hücre maturasyon derecesi bakımından Johnsen skorlamasına tabi tutuldu.

Johnsen skorlamasına göre 1-10 arasındaki kriterler şu şekilde değerlendirildi;

1- Tubulus içinde hiç hücre yok
2- Germ hücresi yok sadece sertoli hücreleri var
3- Germ hücresi olarak sadece spermatogonya var
4- Spermatozoa, spermatid yok, 5'den az sayıda spermatosit var
5- Spermatozoa, spermatid yok, 5'den fazla sayıda spermatosit var
6- Az sayıda spermatid var, spermatozoa yok
7- Çok sayıda spermatid var, spermatozoa yok
8- Germinal epitel kalın ancak spermatozoa sayıca 10'dan az
9- Spermatogenez tam ancak epitelde disorganizasyon ve lümene dökülme var
10- Tam spermatogenez, germinal epitel kalın ve çok sayıda spermatoza izleniyor

3.16. İdrar muayenesi için örnek alınması ve değerlendirilmesi

Deneklerin idrar örnekleri 1,0 mm × 13 cm (Kruuse-Buster) steril esnek erkek kedi idrar sondaları kullanılarak elde edildi (Şekil 3-9). Bunun için muayene masasına yan olarak yatırılan erkek kedinin prepusyumu penis üzerinden hafifçe geriye doğru çekildi. Penis ucundan nazikçe uygulanan sonda idrar akışı oluncaya kadar ilerletildi ve idrar örnekleri steril enjektörlerde toplandı (Şekil 3-10). Toplanan örnekler önce makroskopik olarak renk ve görünüm daha sonra ise Kruuse Vet-10 idrar stripleri ile (dansite, pH, glukoz, keton, ürobilojen, bilurubin, protein, nitrit, lökosit ve eritrosit) ayrıntılı incelendi ve elde edilen değerler kaydedildi.





Şekil 3-9 ve **Şekil 3-10:** Steril esnek erkek kedi idrar sondası ile idrarın alınması

3.17. Testis içi uygulama sonrası erkek kedilerin testislerinde, genel durumunda ve davranışlarında incelenen bulgular

Orşiektomize yapılan erkek kediler operasyondan sonra ayrı ayrı özel kafeslere yerleştirildi. Uygulama yapılan tüm erkek kedilere genel anesteziden uyanma sürecine ve 24 saat sonrasına kadar her saat, daha sonrasında ise 7 güne kadar günlük olarak aşağıdaki genel muayeneler ve davranışları ile ilgili incelemeler;

1. Skrotum ve testislerin enjeksiyon yapılan bölgede oluşan enflamasyon (ödem), renk değişikliği, dermatit, ülserizasyon ve nekrotik alanlar yönünden muayenesi,
2. Hayvanların davranışsal olarak enjeksiyon bölgesini yalama ve kaşıntı yönünden gözlemlenmesi,
3. Vücut duruşunun (ağrı, oturma, yürüme isteği, arka bacaklarını açık vaziyette tutma gibi stres belirtileri) gözlemlenmesi,
4. Genel sağlık durumunun (ağırlık, iştah, kusma, ishal, kalp ve solunum hızı ve beden ısısı muayeneleri) değerlendirilmesi işlemleri yapıldı.

3.18. İstatistiksel analiz

Veriler, ortalama ± SH (Standart Hata) olarak sunuldu. Statistiksel analiz SPPS 18 paket programıyla (IBM, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yapıldı. İntratestiküler farklı dozlarda enjekte edilen çinko klorür ve %0,9'luk NaCl'nin testis hacmi, testosteron ve kortizol üzerindeki değişiklikleri tek yönlü varyans analizi Student's *t* testi kullanılarak yapıldı. Tüm analizlerde $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

3.19. Alet ve malzeme listesi

<u>Operasyon sonrası hayvan bakımı ve beslenmesi</u>

Paslanmaz Çelik Kedi Kafesi (4 adet) (80×100×140 cm)

Plastik Kum Kabı (4 adet)

Plastik Mama ve Su Kabı (4'er adet)

Kedi Kumu (500 kg)

Kedi Maması (200 kg)

Hasta Altı Pedi (10 poşet)

Kedi Tutma Eldiveni (2 çift)

Kan alımı işlemleri ve muayeneleri

Ksilazin Hidroklorür (1 flakon)

Ketamin Solüsyonu (10 flakon)

Kan Alma İğnesi (100'lük × 12)

Kan Tüpü (Antikoagülansız, 100'lük × 12)

Pipet Ucu Sarı (1 paket=1000 adet)

Pipet Ucu Mavi (1 paket=1000 adet)

Eppendorf Tüpü (0,5'lik, 1 paket=1000 adet)

Bistüri Ucu (1 kutu)

Etil Alkol (1 litre)

Non-Steril Eldiven (10 kutu)

Pamuk (1 kg)

Enjektör 5 ml (100 adet)

Enjektör 2 ml (100 adet)

İdrar alımı ve muayenesi için:

Steril Fleksible Kedi İdrar Sondası 1,0 × 130 mm (5 kutu)

İdrar Stiribi (1 kutu)

İdrar Tüpü (100 adet)

Kimyasal ilaç uygulamaları için:

İnsülin Enjektörü (100 adet)

Kan serumu çıkarılması için:

Santrifüj Cihazı (1 adet)

Testislerin görüntülenmesi ve ölçümlerinin yapılması için:

Ultrason Cihazı (1 adet)

Ultrason Jeli (1000 ml)

Jel Pedi (2 adet)

Kumpas (1 adet)

Sperma alma ve değerlendirme işlemleri için:

Elektroejakülatör Cihazı (1 adet)

Otomatik Pipet 100 mikrolitre (1 adet)

Otomatik Pipet 1000 mikrolitre (1 adet)

Isıtma Tablalı Işık Mikroskopu (1 adet)

Lam-Lamel (1'er Kutu)

Ph İndikatör Test Strip'leri (1 paket)

Çinko Klorür (Sigma) (1 Kutu)

%0,9 NaCl solüsyonu (1 litre)

4. BULGULAR

4.1. Erkek kedilerde uygulama öncesi ve sonrası saptanan genel klinik bulgular

Uygulamayı takip eden ilk 24. saatteki gözlemlerde bütün erkek kedilerde 1-2 gün boyunca süren hafiften orta dereceye değişen derecelerde normal oturma pozisyonuna gelmekte ve uygulama yapılan bölgeyi zemine temas ettirmekte isteksizlik ve testis dokusunda inflamasyona bağlı orta derecede bir şişkinlik ve ödem gözlemlendi. Bu belirtiler 48. saatten sonra hızla azalarak kayboldu ve 96. saatten sonra hiçbir erkek kedide gözlemlenmedi. Çalışmaya katılan erkek kedilerin hiçbirisinde uygulamayı takip eden günlerde iştahsızlık ve su alımında azalma, şiddetli ağrı, genel huzursuzluk, hareket etmede ve yürümede zorluk gibi belirtiler görülmedi. Tüm gruplarda intratestiküler uygulama öncesi ve sonrası her bir erkek kedinin rektal vücut ısısı normaldi.

İntratestiküler uygulama sonrası tüm erkek kedilerde ilk 24 saatte herhangi bir fistül oluşumu gözlenmezken, skrotumlarını ısırdıkları ya da yaladıkları da gözlemlenmedi. Uygulama yapılan bütün erkek kedilerde intratestiküler enjeksiyondan hemen sonra ve 24-48 saat süren aseptik testiküler orta derecede inflamasyon gözlemlendi. Bir hafta içerisinde yapılan kontrollerde ise testislerin tekrar normal görünümlerine döndükleri ve elle yapılan testis muayenesinde herhangi bir agresiflik ve rahatsızlık belirtisi saptanmadı. Sadece düşük doz $ZnCl_2$ uygulanan bir erkek kedide 2-3 saat sonra azalmış bir aktivite ve iştahsızlık gözlenirken, diğer tüm uygulama gruplarında belirgin bir skrotal ve testiküler ağrı veya hassasiyet görülmedi. İntratestiküler uygulama ve kontrol grubu erkek kedilerde, testislerin histopatolojik incelemeleri için 60. günde yapılan cerrahi orşiektomi operasyonu sonrası hiçbir komplikasyon vakası gözlemlenmedi.

4.2. Uygulama öncesi tüm gruplarda (0. gün) saptanan spermatolojik özellikler

Uygulama öncesi 0. gün gruplararası elde edilen ortalama spermatolojik özellikler incelendiğinde sperma hacmi en yüksek orta doz (OD grup) $ZnCl_2$ uygulanan gruptaki erkek kedilerde (n=4) elde edilirken, en düşük sperma hacmi ise %0,9 NaCl (NaCl grup) uygulama grubunda (n=4) elde edildi. Spermatozoon motilitesi yönünden tüm gruplar arasında herhangi

bir farklılık saptanmadı. Spermatozoon yoğunluğu en yüksek, %0,9 NaCl (n=4) ve yüksek doz (YD grup) $ZnCl_2$ (n=4) uygulanan gruptaki erkek kedilerde elde edilirken, en düşük DD ve OD gruplarında elde edildi. Akrozom, orta kısım ve kuyruk bozuklukları açısından gruplar arası farklılıklar ($p<0,05$) saptanırken, pH değeri, baş ve toplam morfolojik bozukluklar açısından tüm gruplar arasında herhangi bir farklılık saptanamadı ($p>0,05$) (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: İntratestiküler enjeksiyon öncesi (0. gün) uygulama ve kontrol gruplarının spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Gruplar	Hacim (µl)	Motilite (%)	Yoğunluk ($\times10^6$/ml)	pH	Morfolojik Bozukluklar (%)				
					Akrozom	Baş	Orta	Kuyruk	Toplam
DD grup	106,2±11,1^{b}	93,7±2,5	41,25±3,23^{c}	6,6±0,1	9,2±1,7^{a}	4,0±1,4	2,5±1,2^{a}	1,7±0,5^{b}	17,5±3,8
OD grup	200,5±21,3^{a}	91,2±4,8	30,00±4,37^{c}	6,7±0,9	3,7±0,9^{c}	4,2±1,5	2,2±0,9^{a}	1,2±0,9^{b}	11,5±3,4
YD grup	68,7±51,7^{c}	87,5±8,6	79,50±45,12^{a}	6,6±0,1	12,2±2,2^{a}	4,0±1,1	2,0±0,8^{a}	4,5±1,0^{a}	22,7±3,5
NaCl grup	40,5±23,1^{d}	82,5±6,4	65,50±56,83^{a}	6,6±0,5	7,5±1,2^{b}	2,7±0,9	2,5±2,0^{a}	2,5±2,0^{ab}	15,2±2,2
KO grup	68,0±13,5^{c}	85,0±4,0	50,50±20,63^{b}	6,6±0,5	10,2±2,6^{a}	3,5±1,2	0,7±0,9^{b}	3,2±1,5^{ab}	17,7±3,5

^{a,b,c,d} Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$). **(**Ort.±SH)
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

4.3. Uygulama sonrası tüm gruplarda (20. gün) saptanan spermatolojik özellikler

Uygulama sonrası 20. gün gruplararası elde edilen ortalama spermatolojik özellikler incelendiğinde sperma hacmi en yüksek yine OD gruptaki erkek kedilerde (n=4) elde edilirken, en düşük sperma hacmi ise NaCl uygulama grubunda (n=4) elde edildi. Spermatozoon içermeyen seminal plazma sıvısı elde edilen (azoospermi) DD grubunda, pH değeri dışında herhangi bir spermatolojik veri elde edilemedi. Spermatozoon motilitesi yönünden en yüksek değerler kontrol ve NaCl gruplarında elde edilirken, en düşük değerler YD ve OD gruplarda elde edildi ($p<0,05$).

En yüksek spermatozoon yoğunluğu kontrol ve NaCl uygulama gruplarında elde edilirken, en düşük değerler ise sırasıyla YD ve OD uygulanan gruplarda elde edildi ($p<0,05$). En yüksek akrozomal bozukluk YD uygulanan grupta elde edilirken, en düşük değer ise kontrol grubu ve sırasıyla; OD ve NaCl gruplarında elde edildi. Baş, orta kısım, kuyruk ve toplam morfolojik bozukluklar yönünden en düşük değerler kontrol grubunda elde edilirken, en yüksek değerler YD uygulanan grupta elde edildi ($p<0,05$) (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: İntratestiküler uygulama ve kontrol gruplarının 20. günde spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Gruplar	Hacim (µl)	Motilite (%)	Yoğunluk (×10^6/ml)	pH	Morfolojik Bozukluklar (%)				
					Akrozom	Baş	Orta	Kuyruk	Toplam
DD grup	80,7±14,1*	-	-	6,6±0,5	-	-	-	-	-
OD grup	152,5±107,7^a	28,7±3,2^c	2,00±2,52^b	6,5±0,5	7,2±3,2^{bc}	3,5±1,3^{ab}	2,2±2,6^b	6,7±0,9^b	19,7±4,2^b
YD grup	64,75±48,1^b	0	0,40±0,37^c	6,6±0,2	38,2±11,5^a	3,5±2,6^a	9,0±8,8^a	14,0±7,6^a	64,7±12,5^a
NaCl grup	58,7±7,1^{bc}	72,5±6,4^b	34,40±41,86^a	6,7±0,8	9,2±1,7^b	2,2±1,7^b	2,0±0,8^b	6,0±4,1^b	19,5±5,2^b
KO grup	69,0±24,6^b	85,0±4,0^a	47,87±22,46^a	6,6±0,5	6,5±1,2^c	2,0±0,8^c	0,7±0,9^c	1,7±0,9^c	11,0±1,4^c

*Azoospermi (seminal sıvı alındı içinde spermatozoon bulunamadı)
^{a,b,c} Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (p<0,05). **(**Ort.±SH)
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

4.4. Uygulama sonrası tüm gruplarda (40. gün) saptanan spermatolojik özellikler

Uygulama sonrası 40. gün gruplararası elde edilen ortalama spermatolojik özellikler incelendiğinde sperma hacmi en yüksek kontrol ve NaCl gruplarında elde edilirken, $ZnCl_2$ uygulanan tüm gruplarda (DD, OD ve YD) azoospermi ile birlikte sadece seminal sıvı alındı ve pH değeri değerlendirilebildi ve pH normal değerlerdeydi. Bu nedenle DD, OD ve YD $ZnCl_2$ uygulanan grupların motilite, yoğunluk ve morfololojik bozuklukları değerlendirilemedi.

Kontrol ve NaCl gruplarında motilite değerleri birbirine benzer saptandı (p>0,05). En yüksek spermatozoon yoğunluğu kontrol grubunda saptanırken, NaCl uygulama grubuyla arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu (p<0,05). En yüksek akrozomal, orta kısım ve toplam morfolojik bozukluklar, intratestiküler NaCl uygulanan grupta elde edilirken, en düşük morfolojik bozukluklar kontrol grubunda elde edildi ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu (p<0,05) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: İntratestiküler uygulama ve kontrol gruplarının 40. günde spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Gruplar	Hacim (µl)	Motilite (%)	Yoğunluk (×10^6/ml)	pH	Morfolojik Bozukluklar (%)				
					Akrozom	Baş	Orta	Kuyruk	Toplam
DD grup	82,5±7,7*	-	-	6,4±0,9	-	-	-	-	-
OD grup	133,7±8,5*	-	-	6,6±0,9	-	-	-	-	-
YD grup	49,7±20,4*	-	-	6,5±0,9	-	-	-	-	-
NaCl grup	83,0±39,4	77,5±8,6	35,32±31,57^b	6,6±0,9	15,2±4,0^a	2,2±2,2	4,5±3,1^a	3,0±1,8	25,0±2,2^a
KO grup	79,5±10,6	86,2±4,7	56,47±48,39^a	6,6±0,5	8,5±2,8^b	2,5±1,2	1,5±1,2^b	2,5±1,9	15,0±3,1^b

*Azoospermi (seminal sıvı alındı içinde spermatozoon bulunamadı)
^{a,b} Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (p<0,05). **(**Ort.±SH)
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

4.5. Uygulama sonrası tüm gruplarda (60. gün) saptanan spermatolojik özellikler

Uygulama sonrası 60. gün gruplararası elde edilen ortalama spermatolojik özellikler incelendiğinde en yüksek sperma hacmi, kontrol ve NaCl gruplarında elde edilirken, OD ve YD uygulanan gruplarda azoospermi ile birlikte sadece seminal sıvı alındı ve pH değerleri değerlendirilebildi. DD $ZnCl_2$ uygulanan grupta ise aspermi yani hiç sperma alınamadı. Bu nedenle DD, OD ve YD $ZnCl_2$ uygulanan grupların motilite, yoğunluk ve morfololojik bozuklukları değerlendirilemedi.

Spermatozoon motilitesi, yoğunluğu, pH, akrozom, orta kısım ve kuyruk bozuklukları kontrol ve NaCl gruplarında benzer saptanırken, baş ve toplam morfolojik bozukluklar yönünden en düşük morfolojik bozukluklar kontrol grubunda elde edildi ($p<0,05$) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4: İntratestiküler uygulama ve kontrol gruplarının 60. günde spermatolojik özelliklerinin karşılaştırılması

Gruplar	Hacim (µl)	Motilite (%)	Yoğunluk ($\times10^6$/ml)	pH	Morfolojik Bozukluklar (%)				
					Akrozom	Baş	Orta	Kuyruk	Toplam
DD grup	**Aspermi**	-	-	-	-	-	-	-	-
OD grup	146,0±24,7*	-	-	6,6±0,6	-	-	-	-	-
YD grup	35,0±20,8*	-	-	6,6±0,1	-	-	-	-	-
NaCl grup	80,2±27,5	86,2±2,5	50,20±30,93	6,7±0,9	11,0±2,5	4,7±2,5[a]	2,0±0,8	2,7±2,3	20,5±4,2[a]
KO grup	87,5±20,6	86,2±2,5	53,50±25,85	6,6±0,5	7,7±2,2	1,2±0,9[b]	1,7±1,5	2,7±0,9	13,5±2,1[b]

*Azoospermi (seminal sıvı alındı içinde spermatozoon bulunamadı)
[a,b] Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$). **(**Ort.±SH)
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

4.6. Testosteron düzeyleri (ng/ml)

Tüm intratestiküler uygulama gruplarında ve kontrol grubunda enjeksiyon öncesi (0. günde) ortalama serum testosteron düzeyleri normal sınırlarda saptandı ve aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı ($p>0,01$). İntratestiküler DD uygulanan grupta ise 20., 40. ve 60. günlerde saptanan testosteron değerleri en düşük ve diğer gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p<0,01$). DD grup kedilerde düşen testosteron değerlerine bağlı olarak penil (spines) dikenciklerin kaybolduğu görüldü (Şekil 1). OD, YD, NaCl ve KO gruplarında 20., 40. ve 60. günlerde saptanan testosteron değerleri arasında herhangi bir istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 4-5).

Tablo 4-5: Tüm uygulama gruplarında intratestiküler enjeksiyon öncesi ve sonrası farklı günlerde saptanan testosteron düzeyleri (ng/ml).

Uygulama Grupları	0. gün	20. gün	40. gün	60. gün
DD Grup	1,57±0,54	0,25±0,16*	0,32±0,25*	0,25±0,16*
OD Grup	1,66±0,09	1,56±0,48	1,50±0,39	1,32±0,36
YD Grup	1,56±0,35	1,32±0,05	1,39±0,10	1,59±0,56
NaCl Grup	1,50±0,05	1,28±0,23	1,44±0,34	1,53±0,83
KO Grup	1,54±0,15	1,37±0,24	1,49±0,86	1,44±0,02
P	*P>0,01*	*P<0,01*	*P<0,01*	*P<0,01*

DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol
P<0,01* **(Ort.±SH)



Şekil 4-1. Düşük doz çinko klorür uygulanan grup erkek kedilerde testosteron düşüklüğüne bağlı penil (spines) dikenciklerin kaybolması

4.7. Kortizol düzeyleri (pg/ml)

Tüm intratestiküler uygulama gruplarında ve kontrol grubunda enjeksiyon öncesi (0. günde) ortalama serum kortizol düzeyleri normal sınırlarda saptandı ve aralarında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı (p>0,01). DD ve OD uygulanan gruplardaki erkek kedilerde 20., 40. ve 60. günlerde serum kortizol düzeyleri en yüksek olarak saptandı ve diğer gruplarda elde edilen değerlerle aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu (p<0,01) (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: Tüm uygulama gruplarında intratestiküler enjeksiyon öncesi 0. gün ve 20., 40. ve 60. günlerde saptanan kortizol düzeyleri (pg/ml)

Uygulama Grupları	0. gün	20. gün	40. gün	60. gün
DD Grup	27,79±5,02	37,24±8,22*	29,60±4,28*	35,89±6,33*
OD Grup	24,14±1,36	32,75±14,04*	39,83±13,64*	32,93±8,68*
YD Grup	21,57±4,11	14,67±3,15	22,32±6,28	19,01±3,07
NaCl Grup	27,43±1,15	15,91±1,18	23,36±1,26	19,61±1,86
KO Grup	25,27±0,69	20,03±1,76	26,75±1,26	22,55±0,69
P	P>0,01	P<0,01	P<0,01	P<0,01

DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol
P<0,01* **(Ort.±SH)

4.8. Kumpas aleti ile saptanan testis ölçüleri

İntratestiküler enjeksiyon yapılan tüm gruplar ile kontrol grubundaki erkek kedilerde 0. günde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerinde sağ ve sol testislerin hesaplanan ortalama testis hacmi birbirine benzer ve aralarında istatistiksel bir önem saptanmadı (p>0,05) (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: İntratestiküler uygulama öncesi 0. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler

Gruplar	Testis Hacmi (mm^3)	
	Sağ	**Sol**
DD grup	1142,2±203,5	1232,2±340,4
OD grup	1155,7±366,9	1114,5±393,6
YD grup	1598,7±523,4	1453,2±455,1
NaCl grup	1131,5±268,6	1267,7±336,6
KO grup	1547,2±362,7	1116,0±295,6

p>0,05
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

İntratestiküler DD gruptaki erkek kedilerde 20. günde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerinde sağ ve sol testisin hesaplanan ortalama hacminde OD, YD, NaCl ve kontrol gruplarında elde edilen değerlerden daha düşük saptandı ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4-8).

Tablo 4-8: İntratestiküler uygulama öncesi 20. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler

Gruplar	**Testis Hacmi (mm^3)**	
	Sağ	**Sol**
DD grup	633,2±239,2[b]	605,0±305,6[b]
OD grup	1316,2±317,3[a]	1306,2±371,5[a]
YD grup	1242,7±437,2[a]	1350,7±235,6[a]
NaCl grup	1240,2±371,7[a]	1280,2±292,9[a]
KO grup	1350,2±352,2[a]	1276,0±105,2[a]

[a.b] Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

İntratestiküler DD, OD ve YD gruplarındaki erkek kedilerde 40. günde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerinde sağ ve sol testisin hesaplanan ortalama hacminde NaCl ve kontrol gruplarında elde edilen değerlerden daha düşük ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: İntratestiküler uygulama öncesi 40. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler

Gruplar	**Testis Hacmi (mm^3)**	
	Sağ	**Sol**
DD grup	522,2±448,8[b]	507,5±398,7[b]
OD grup	592,5±215,2[b]	707,2±366,6[b]
YD grup	841,5±151,6[b]	690,0±270,9[b]
NaCl grup	1238,7±288,5[a]	1210,0±214,6[a]
KO grup	1337,5±262,7[a]	1216,0±195,0[a]

[a.b] Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

İntratestiküler DD, OD ve YD gruplarındaki erkek kedilerde 60. günde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerinde, sağ ve sol testis hacmine ait ortalama değerler NaCl ve kontrol gruplarında elde edilen değerlerden daha düşük ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulundu ($p<0,05$) (Tablo 4-10).

Tablo 4-10: İntratestiküler uygulama öncesi 60. gün kumpas ile sağ ve sol testisin hacmine ait ortalama değerler

Gruplar	**Testis Hacmi (mm^3)**	
	Sağ	**Sol**
DD grup	$412,2\pm248,8^{b}$	$377,5\pm128,7^{b}$
OD grup	$557,2\pm101,5^{b}$	$580,7\pm159,8^{b}$
YD grup	$610,7\pm214,8^{b}$	$502,7\pm161,6^{b}$
NaCl grup	$1313,7\pm299,1^{a}$	$1118,2\pm106,4^{a}$
KO grup	$1210,2\pm230,0^{a}$	$1245,0\pm145,6^{a}$

$^{a.b}$ Dikey kolonlarda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir ($p<0,05$).
DD: Düşük Doz, **OD:** Orta Doz, **YD:** Yüksek Doz **NaCl:** %0,9 NaCl **KO:** Kontrol

4.9. Ultrason (US) cihazı ile testiste saptanan bulgular

İntratestiküler uygulama öncesinde testis dokusunun sağlıklı olup olmadığı ultrason ile (US) incelendi. Değerlendirme US'da gri skala inceleme ile başladı ve öncelikle herhangi bir kitlenin intratestiküler ya da ekstratestiküler yerleşiminin olup olmadığına bakıldı.

Sağlıklı olduğu değerlendirildikten sonra testis ölçülerinin kumpas ile ölçümlenen uzunluk × genişlik değerleri (mm) ile uyumlu olup olmadığı değerlendirilerek kayıt altına alındı ve kontrol grubu hariç tüm uygulama gruplarındaki erkek kedilere intratestiküler enjeksiyonlar tek doz olarak yapıldı.

Kontrol grubundaki erkek kedilerde normal testisler orta ekojeniteye ve ince, homojen bir eko dokuya sahipti. Testiküler sınır, ince, pürüzsüz ve hiperekoik tunika albuginea sahipti. Enine görüntülerde mediastinum testis merkezi olarak yerleştirilmiş bir hiperekoik odak olarak göründü.

İntratestiküler uygulamadan sonraki 20., 40. ve 60. günlerde ise yine kontrol ve tüm uygulama gruplarında yapılan US muayenelerinde yine gri skala incelemesi ile herhangi bir kitlenin intratestiküler ya da ekstratestiküler yerleşiminin olup olmadığı değerlendirildi.

İncelemelerde özellikle DD, OD ve YD gruplarında 40. ve 60. günlerde yapılan US muayenesinde herhangi bir hipoekoik görünümlü solid kitleye, rete testis ektazisine ve tunika albuginea kisti gibi kistlere rastlanılmadı ancak testiküler atrofi ile birlikte testis ölçülerinde %50 azalma kaydedildi.

4.10. İntratestiküler yolla düşük, orta, yüksek doz $ZnCl_2$ uygulaması sonrası 60. günde cerrahi kısırlaştırma sonrası testis histopatolojisi

4.10.1. İntratestiküler düşük doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler

Kedi 1:

Her iki testiste rete testisi de içine alan geniş bir bant şeklinde fibrozis ve mononükleer yangı hücreleri izlendi. Tubuluslarda belirgin vakuol, ödem, spermatosit mevcut iken, epididimisin bazal hücreleri tamamen boş ve Leydig hücrelerinde artış gözlendi (Johnsen skoru 4).

Kedi 2:

Her iki testiste yoğun fibrozis ve hiyalinize görünüm ile arada kalan adacık şeklindeki tubuluslarda sertoli hücre sendromu ve diğer tubuluslarda ise spermatid evresine kadar alanlar ile Leydig hücrelerinde belirgin artış gözlendi (Johnsen skoru 6).

Kedi 3:

Bir kesitte alanın 4/5'i tamamen hiyalinize, fibrotik görünümde kapsulaya yakın az sayıda dejeneratif tubuluslar mevcutken, diğer kesitte tubulusların birçoğunun yalnızca bazal membranı olduğu gözlendi. Diğerlerinde dejeneratif vakuoller sertoli ve spermatogonyumlar gözlendi (Johnsen skoru 3).

Kedi 4:

Tubuluslarını interstisiyel fibrozis ile iki kola ayıran testis tubuluslarında belirgin dejenerasyon ve spermatogenez bozulmakla birlikte, dejeneratif ve vakuoler görünümündeki tubuluslarda spermatozoa olmamakla birlikte spermatogonyum, spermatosit ve az sayıda spermatid saptandı (Johnsen skoru 6).

4.10.2. İntratestiküler orta doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler

Kedi 1:

Makroskopik görünümde oldukça atrofik bir testis gözlendi. Dokunun ortası nekroze, etrafı ise tamamen tubulosklerotik hiyalinize görünümde, arada kollabe olmuş tubulusların hayali görüntüleri izlendi. Leydig hücresi ve seminifer tubulus gözlenmedi (Johnsen skoru 1).

Kedi 2:

Makroskopik olarak atrofik ve testis dokusu hiç seçilemedi, tubulosklerotik hiyalinize görünümde ve orta kısmın nekroze olduğu gözlendi (Johnsen skoru 1).

Kedi 3:

Testis dokusu orta düzeyde atrofik kapsuladan başlayarak testisin parankimine doğru ilerleyen tubulosklerotik yapıda fibrozis gözlendi. Tubuluslar sayıca azalmış ve dejeneratif, epididimis kanalları tamamen boş olarak gözlendi. Bazı tubulus hücreleri tamamen boşalmış, bazılarında spermatogonyalar mevcut ve birkaç tubulusta spermatid dev hücreleri gözlendi. Sol testiste sağ testise göre Leydig hücre sayılarında belirgin artış izlendi (Johnsen skoru 3).

Kedi 4:

Sol testiste makroskopik olarak belirgin atrofi, mikroskobik olarak çok şiddetli tubulosklerotik hıyalinize fibrozis, tubulus hücreleri kollabe olmuş, sertoli hücresi yok, spermatogonyum gözlenmedi. Fibrotik ortamda az sayıda Leydig hücreleri ile birlikte köpüklü makrofajlar ve mononükleer hücreler saptandı (kronik orşit sonucu gelişen total testis atrofisi, yangı, fibrozis ve hiyalinleşme gibi bir patoloji şekillenmiş). Sağ testis makroskopik olarak atrofik ancak yoğun tubulosklerotik hyalinize fibrozis alanlarında odacık şeklinde kalan tubuluslarda sertoli hücre only sendromu görüldü (Johnsen skoru 1).

4.10.3. İntratestiküler yüksek doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler

Kedi 1:

Testis atrofisik, makroskopik olarak belirgin küçük, tubuler skleroz ve interstisyel fibrozis çok belirgin görüldü. Çoğu tubulus bu alanlarda kalıp sönmüş, Leydig hücrelerinde artış, tubulus epitellerinde dejeneratif spermatozoa ve spermatid bulunmazken, spermatogonya saptandı (Johnsen skoru 3).

Kedi 2:

Sağ testisten yapılan kesitte 1/3'lük alanda belirgin tubuler skleroz ve fibrozis ve arada kollabe olmuş tubuluslar gözlendi. Diğer tubulusların bir kısmında germ hücre hipoplazisi ve az sayıda tubulusta da spermatid evresi (spermatogenik maturasyon evresi) görüldü (Johnsen skoru 4).

Kedi 3:

Testisin önemli bir kısmı hiyalinize fibröz alanlar şeklinde ve içerisi kapanmış tubuluslar ile dolu durumda gözlendi. Tubuluslarda içi tamamen boşalmış yapılar, içleri ödem sıvısı ile dolu olanlar vakuoler yapıdaki spermatogonyumların bulunduğu yapılar ile belirgin artış gösteren Leydig hücreleri izlendi (Johnsen skoru 2).

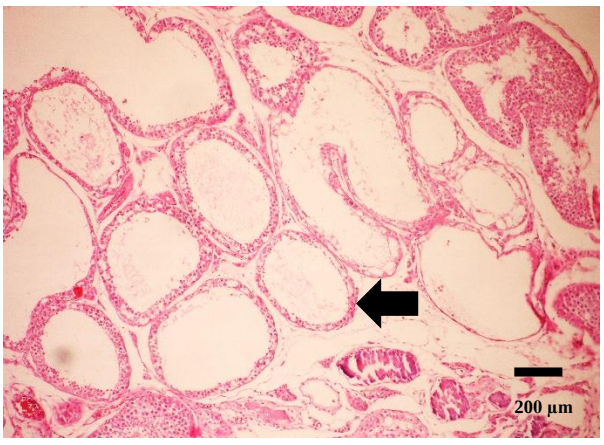
Kedi 4:

Kapsuladan başlayarak mediastinum testis ve rete testise kadar ilerleyen ve testis parankiminin içerisinde üreyen kalın fibröz bantlarla testisi 3-4 adacıklı tubuluslara ayıran yapı izlendi. Testisin önemli bir kısmı hiyalinize fibröz alanlar şeklinde ve içerisi kapanmış tubuluslar ile dolu durumda bulundu. Adacıkların arasında kalan tubuluslarda ise yine tamamen boşalmış yapılar, içleri ödem sıvısı ile dolu olanlar vakuoler yapıdaki spermatogonyumların bulunduğu yapılar ile belirgin artış gösteren Leydig hücreleri izlendi (Johnsen skoru 3).

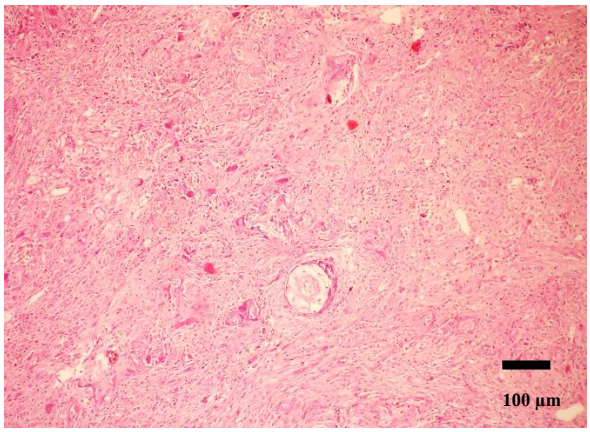
4.10.4. İntratestiküler $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan tüm gruplardaki erkek kedilere ait histopatolojik görüntüler (H.E. ×200)



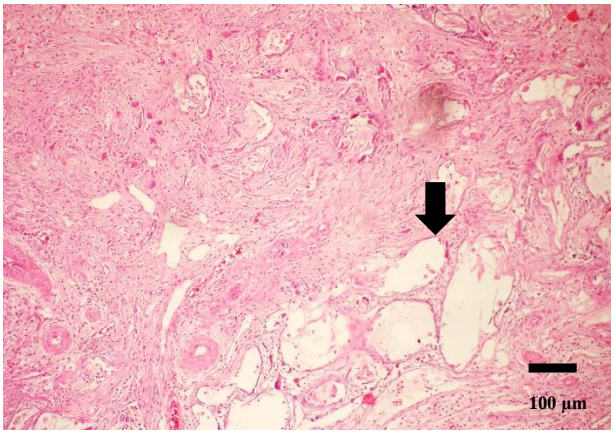
Şekil 4-2: Testiste tubuluslarda gözlenen vakuolizasyon



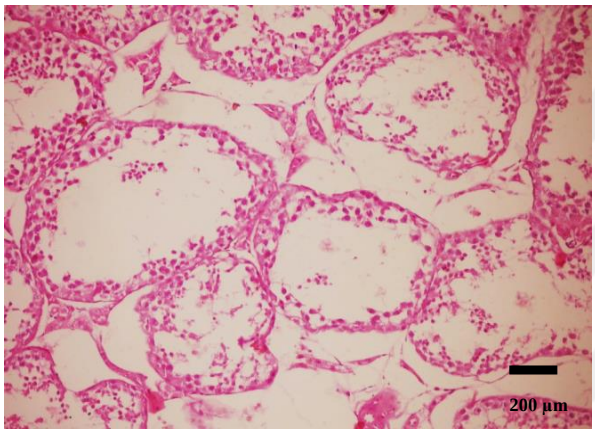
Şekil 4-3: Testiste tubuluslarda gözlenen dejenerasyon



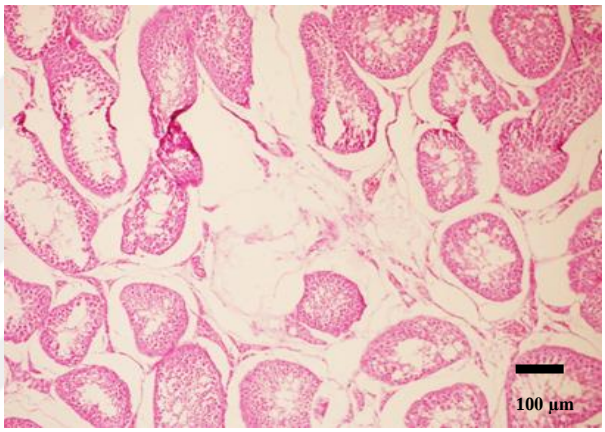
Şekil 4-4: Testis dokusunda gözlenen şiddetli fibrozis



Şekil 4-5: Testiste fibrozis ve boş tubulus seminiferuslar



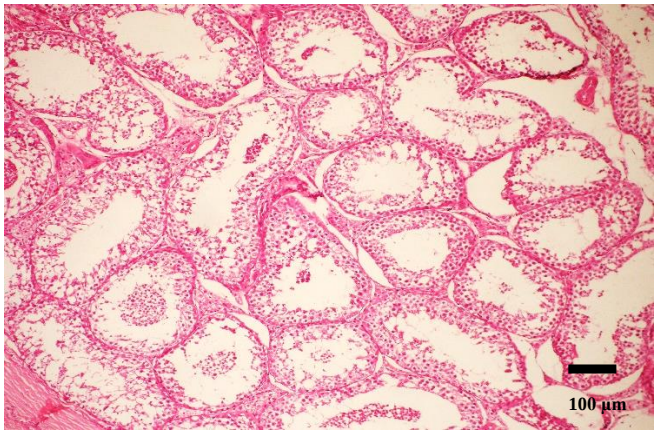
Şekil 4-6: Tubuluslarda dejenerasyon, vakualizasyon, intertübüler alanda ödem, az sayıda Leydig hücreleri



Şekil 4-7: İntertubuler alanlarda genişleme, kollajen doku iplikleri

4.10.5. İntratestiküler %0,9 NaCl uygulanan erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler

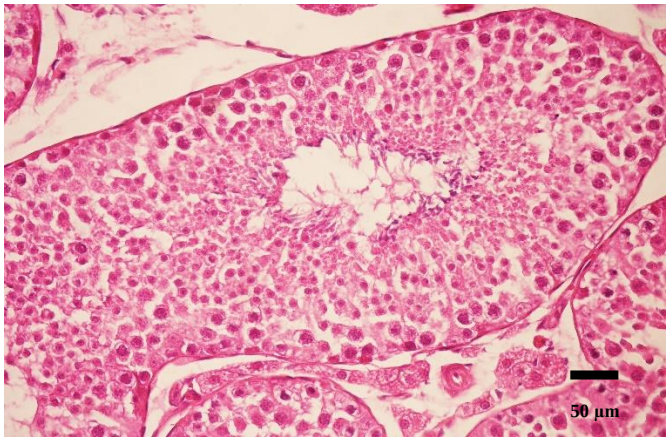
Testis içi %0,9 NaCl uygulanan gruba ait erkek kedilerin (n=4) sağ ve sol testislerinde yapılan histopatolojik incelemelerde fibrozis gözlenmedi, genellikle dört kedide de vakuolizasyon dejenerasyonu ve tubuluslarda spermatogonyumlar gözlendi ayrıca spermatidler ve spermatozoaların mevcut olduğu da saptandı. Leydig hücre sayısında artış ile birlikte epididimis kanallarında spermatozoalar da gözlendi (Johnsen skoru 8) (Şekil 4-8).



Şekil 4-8: Vakualizasyon dejenerasyonu, tubuluslarda spermatogonyumlar, spermatid ve spermatozoa (H.E. ×200)

4.10.6. İntratestiküler uygulama yapılmayan kontrol grubu erkek kedilerde histopatolojik değerlendirmeler

İntratestiküler uygulama yapılmayan kontrol grubu erkek kedilerin (n=4) sağ ve sol testislerinde yapılan histopatolojik incelemelerde intertubuler alanda normal spermatogenezis, tubuluslarda spermatogonyumlar, spermatidler ve spermatozoalar görüldü. Dört erkek kedide de normal yapıda Leydig hücreleri ile birlikte epididimis kanallarında spermatozoalar saptandı (Johnsen skoru 10) (Şekil 4-9).



Şekil 4-9: İntertubuler alanda normal spermatogenez ve Leydig hücreleri (H.E. ×400)

4.10.7. İdrar örneklerinin makroskobik ve test stripleri kullanılarak kantitatif değerlendirilmesi

Tüm gruplardaki erkek kedilerin idrarlarında makroskobik yönden (renk/görünüm) uygulama öncesi ve 20., 40. ve 60. günlerde anlamlı herhangi bir farklılık gözlenmedi. Renk için açık sarıdan-sarıya ve görünüm için ise berrak-bulanık arasında bir değişkenlik gözlendi.

Uygulama öncesi ve 20., 40. ve 60. günlerde tüm gruplarda idrarda saptanan dansite değerleri sırasıyla ortalama; 1021.8±8.7, 1019.4±9.9, 1015.8±6.6 ve 1017.0±7.6 olarak, pH değerleri ise sırasıyla ortalama; 6.4±0.4, 6.6±0.4, 6.6±0.4 ve 6.8±1.4 olarak saptandı (Tablo 4-11-Tablo 4-14).

Tablo 4-11. Enjeksiyon öncesi tüm gruplarda 0. günde idrardaki dansite ve pH değeri

Gruplar	Dansite	pH
DD grup (n=4)	1027	6,25
OD grup (n=4)	1027	6,12
YD grup (n=4)	1015	6,75
NaCl grup (n=4)	1010	7,00
KO grup (n=4)	1030	6,00
Ortalama	**1021,8±8,7**	**6,4±0,4**

Tablo 4-12. Enjeksiyon sonrası tüm gruplarda 20. günde idrardaki dansite ve pH değeri

Gruplar	Dansite	pH
DD grup (n=4)	1022	6,62
OD grup (n=4)	1027	6,25
YD grup (n=4)	1008	7,00
NaCl grup (n=4)	1010	7,00
KO grup (n=4)	1030	6,00
Ortalama	**1019,4±9,9**	**6,6±0,4**

Tablo 4-13. Enjeksiyon sonrası tüm gruplarda 40. günde idrardaki dansite ve pH değeri

Gruplar	Dansite	pH
DD grup (n=4)	1022	6,12
OD grup (n=4)	1020	6,50
YD grup (n=4)	1017	7,00
NaCl grup (n=4)	1005	7,00
KO grup (n=4)	1015	6,50
Ortalama	**1015,8±6,6**	**6,6±0,4**

Tablo 4-14. Enjeksiyon sonrası tüm gruplarda 60. günde idrardaki dansite ve pH değeri

Gruplar	Dansite	pH
DD grup (n=4)	1015	6,75
OD grup (n=4)	1015	6,75
YD grup (n=4)	1015	6,75
NaCl grup (n=4)	1030	7,00
KO grup (n=4)	1010	7,00
Ortalama	**1017,0±7,6**	**6,8±1,4**

Tüm uygulama gruplarında ve kontrol grubunda glukoz, keton, ürobilojen, bilurubin, protein, nitrit, lökosit ve eritrosit varlığı açısından uygulama öncesi 0. ve sonrası 20., 40. ve 60. günlerde elde edilen değerler normal sınırlar içerisinde saptandı.

5. TARTIŞMA

Dünya çapındaki köpeklerin yaklaşık %75'i genellikle başıboş sokak hayvanı olarak anılır, serbestçe dolaşabilmekte ve çoğalabilmektedirler (ICAM Coalition 2007). İstenmeyen ya da başıboş kedilerin ve köpeklerin aşırı nüfusları sadece Kuzey Amerika'da değil, dünyanın diğer ülkelerinde de hala bir sorun olmaya devam etmektedir. Eğer pet hayvan nüfusu kontrolsüz olarak artarsa insanlar için bunun etkileri can sıkıcı olabilir. Eğer bir dişi kedi yılda 8 yavru üretiyorsa, 7 yılda 174.760 adet kedi üretme potansiyeli vardır (Olson ve Johnstone 1993). Sadece Amerika Birleşik Devletlerinde yılda 27 milyondan fazla köpek ve kedinin barınaklara toplandığı bildirilmektedir (Crenshaw ve Carter 1995). Rakamlar değişse de, 1990 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki hayvan barınaklarında tahmini olarak 5,4 ila 9,1 milyon köpeğe ve 5,7 ila 9,5 milyon kediye ötanazinin uygulandığı bildirilmektedir (Olson ve Johnstone 1993).

Başıboş gezen sokak hayvanlarından kedi ve köpeklerin popülasyonlarının kontrol altına alınmasında etkili bir stratejiyle mücadele edilmelidir. Günümüzde yaygın olarak erkek kedi ve köpeklerde kullanılan cerrahi kısırlaştırma tekniği en etkili ve en insancıl yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Ancak, bu teknik yüksek maliyet, anestezi, cerrahi operasyon ve komplikasyon riskleri ve ameliyat sonrası bakım gibi unsurları içermektedir. Testis içi enjeksiyon elli yıldan fazla süredir erkek kısırlaştırması ve aspermatojenik orşit oluşturulmasında bir yöntem olarak araştırılmaktadır (Kutzler ve Wood 2006; Baran ve ark. 2010; Jana ve Samanta 2011; Oliveira ve ark. 2013). Yapılan bir araştırmada, 10-25 ünite Freund's Complete Adjuvant (FCA) ve Bacillus Calmette Guerin (BCG) enjeksiyonunun doğrudan erkek köpeklerin testislerine verilmesiyle, dolaşımda anti-sperm antikorlar gelişmeden şiddetli oligospermi ya da azospermi'ye neden olarak kısırlık meydana gelmiştir. Daha sonra altı hafta içinde infertilite gerçekleşmiş ve birkaç ay sürmüştür (Talwar ve ark. 1979; Naz ve Talwar 1981). İntratestiküler yolla metallibür, deksametazon, metopiron solüsyonu, niridazol, a-klorohidrin veya danazol'un kombine uygulanması köpeklerde testiküler ve epididimal atrofi ile azoospermi'ye neden olmuştur (Dixit 1979).

Testis içi kimyasal madde verilmesinin cerrahi kısırlaştırma tekniğine göre riskleri daha düşük ve kısa sürede hayvanın kısırlaştırılmasını sağlaması da bir avantaj olarak görülmektedir.

Kimyasal kısırlaştırmada kullanılacak etken maddenin spermatogenezisi durdurması, testosteronu azaltarak libidoyu düşürmesinin yanında sistemik toksisite ve ciddi yan etkilerinin olmaması gereklidir. Bu amaçla çeşitli kimyasal maddeler değerlendirilmiş, incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (Jana ve Samanta 2007; Baran ve ark. 2010; Jana ve Samanta 2011; Oliveira ve ark. 2013; Cavalieri 2017; Leoci ve ark. 2019).

Erkek köpeklerde intratestiküler kimyasal kısırlaştırmada danazol (Dixit ve ark. 1975b), çinko arjinin (Fahim ve ark. 1993), gliserol (Immegart ve Threlfall 2000), etanol (Canpolat ve ark. 2006), formalin (Bakır ve ark. 2002), kalsiyum klorür (Samanta 1998; Jana ve Samanta 2007), çinko glukonat (Soto ve ark. 2009), klorheksidin diglukonat (Aiudi ve ark. 2010), sodyum klorür (Dayanti ve ark. 2021; Canpolat ve ark. 2016) kullanılan bazı ajanlardır.

Son yıllarda yapılan bilimsel araştırmalarda, erkek köpek ve kedilerde intratestiküler kimyasal madde verilerek yapılan kısırlaştırma uygulamalarının androgenezis ve sekonder seks karakterlerini baskılama ve mevcut popülasyon kontrolünü sağlamada etkili olduğu bildirilmektedir (Dayanti ve ark. 2021). İntratestiküler sklerozan solüsyonların enjeksiyonu ile kimyasal kastrasyon kedilerde cerrahi orşiektomiye önemli bir alternatiftir ve daha fazla hayvan refahını ön planda tutan, daha az invaziv ve daha az risk taşıyan ekonomik bir uygulamadır. Testiste lokal inflamatuvar reaksiyonlara sebep olarak oluşan lipid peroksidasyona bağlı infertiliteyi sağlamaktadır (Jana ve Samanta 2011; Oliveira ve ark. 2013; Paranzini ve ark. 2018)

Bu tez çalışmasında ergin erkek kedilerin her bir testisine tek doz uygulanan $ZnCl_2$ solüsyonu enjeksiyonunun, hayvanların genel sağlık durumu, testis büyüklüğü, testis parankimi spermatolojik özellikler, idrar kalitesi, serum testosteron ve kortizol düzeyleri üzerine etkileri çalışma süresince incelenmiştir.

İntratestiküler yolla düşük doz (DD), orta doz (OD) ve yüksek doz (YD) $ZnCl_2$ solüsyonu ve %0,9'luk NaCl uygulanan erkek kedilerin hepsinde uygulamayı takip eden ilk 24 saatte içerisinde yapılan gözlemlerde bulunduğu yere oturmakta genel bir isteksizlik saptanmıştır. Ayrıca testis dokusunda inflamasyona bağlı olarak hafif şişkinlik ve ödem kaydedilmiş ancak bu belirtiler 48. saatten sonra hızla azalmış ve 96. saatten sonra hiçbir erkek kedide gözlemlenmemiştir. İntratestiküler uygulama yapılan tüm gruplardaki erkek kedilerde ilk enjeksiyondan sonraki günlerde iştahsızlık ve su alımında azalma, şiddetli ağrı, genel huzursuzluk, hareket etmede ve yürümede zorluk gibi belirtiler saptanmamıştır. Yukarıda gözlenen bu genel bulgular erkek kedilerde testis içi farklı kimyasal maddeler uygulayan çoğu

araştırıcının bildirdiği genel klinik bulgularla uyumlu bulunmuştur (Baran ve ark. 2010; Levy 2010; Jana ve Samanta 2011; Oliveira ve ark. 2013). Bu durum sunulan tez çalışmasında verilen $ZnCl_2$ solüsyonunun ve uygulama tekniğinin erkek kedilerin genel sağlık durumuna olumsuz bir etki vermediğinin en önemli göstergesi olmuştur.

Uygulama yapılan bütün erkek kedilerde intratestiküler enjeksiyondan hemen sonra ve 24-48 saat süren aseptik testiküler orta derecede bir inflamasyon gözlemlenmiş ve bir hafta içerisinde yapılan kontrollerde testislerin tekrar normal görünümlerine döndükleri ve elle yapılan testis muayenesinde hayvanlarda herhangi bir rahatsızlık ve agresiflik belirtisi saptanmamıştır. Sadece DD $ZnCl_2$ uygulanan gruptaki bir erkek kedide 2-3 saat sonra azalmış bir aktivite ve iştahsızlık gözlenirken, diğer tüm uygulama gruplarında belirgin bir skrotal ve testiküler ağrı veya hassasiyet görülmemiştir. Testiküler ve epididimal parankimden daha çok skrotal deri ve testis kapsülü üzerinde ağrı hissini veren afferent sinirler bulunmaktadır. İntratestiküler enjeksiyon sırasında ve hemen sonrasında oluşan genleşme ve basınç ile afferent sinir uçları uyarılarak ağrı hissi oluşmuş olabilir. Bu ağrı hissinin önüne geçmek için Jana ve Samanta (2011) enjeksiyon içine bir lokal anestezik olan %1'lik lignokain hidroklorid ilavesini çalışmalarında önermişlerdir. Çalışmamızda yukarıda belirtilen ağrının oluşma ihtimaline karşı intratestiküler uygulamadan hemen sonra sistemik ağrı kesici ilaçlardan yararlanılmış ve hayvanlarda hiçbir ağrı semptomu ile karşılaşılmamıştır.

İntratestiküler DD, OD, YD $ZnCl_2$ solüsyonu ve %0,9'luk NaCl uygulanan gruplardaki 16 adet erkek kedinin hiçbirinde (%0) ilk 24 saatte enjeksiyon giriş ve çıkış noktalarında herhangi bir fistül oluşumu gözlenmezken, skrotumlarını da ısırdıkları ya da yaladıkları gözlemlenmemiştir. Enjeksiyon bölgesinde fistül oluşumu enjekte edilen maddenin testis dokusu ile skrotal kese arasındaki boşluğa kaçması ile oluşmaktadır. Fistül oluşumunun önlenmesi için araştırıcılar enjeksiyon sırasında verilecek maddenin tamamının testis içine verilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Levy 2010; Jana ve Samanta 2011; Oliveira ve ark. 2013). Testis içi verilen kimyasal maddenin enjeksiyon yapılan noktadan geri sızması skrotal deride ve dokuda nekroza neden olabileceğinden, solüsyonun dışarı sızması durumunda hemen bölgenin silinmesi tavsiye edilmiştir (Jana ve Samanta 2011). Çalışmamızda da fistül oluşumunu önlemek için skrotal deri gerdirilerek enjeksiyon çıkış noktasında skrotal boşluğa solüsyonun kaçması önlenmiştir. Tüm erkek kedilere 0,2 ml hacimde testis içine verilen farklı dozlardaki çinko klorür ve %0,9'luk NaCl solüsyonunun tamamı enjekte edildikten sonra

enjektörün hızla geri çekilmesi işlemi yapılarak hiçbir fistül vakasının oluşmasına müsaade edilmemiştir.

Tüm gruplardaki erkek kedilerin idrarların makroskobik yönden renk ve görünümlerinde uygulama öncesi ve 20., 40. ve 60. günlerde idrar rengi için açık sarıdan sarıya, görünüm için ise berrak ve bulanık arasında bir değişkenlik belirlenmiştir. İntratestiküler uygulama öncesi ve 20., 40. ve 60. günlerde kontrol grubu dahil tüm gruplarda idrarda saptanan dansite değerleri sırasıyla ortalama; 1021.8±8.7, 1019.4±9.9, 1015.8±6.6 ve 1017.0±7.6 olarak, pH değerleri ise sırasıyla ortalama; 6.4±0.4, 6.6±0.4, 6.6±0.4 ve 6.8±1.4 olarak saptanmıştır. Elde edilen bu değerler erkek kedilerde idrar pH değerinin 6,6-8,7 arasında (Lees ve ark. 1979; Hewitt 1998) ve dansite değerinin ise 1005-1090 arasında olması gerektiğini (Rishniw ve Bicalho 2015) bildiren araştırıcılarla benzer ve normal sınırlar içerisinde olduğu saptanmıştır.

Tüm uygulama grupları ile kontrol grubundaki erkek kedilerde intratestiküler uygulama öncesi 0. günde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerde sağ ve sol testislerin hesaplanan ortalama testis hacimleri birbirine benzer ve aralarında istatistiksel olarak bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). İntratestiküler DD gruptaki erkek kedilerde 20. günde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerinde sağ ve sol testisin hesaplanan ortalama hacminde OD, YD, NaCl ve kontrol gruplarında elde edilen değerlerden daha düşük saptanmış ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). İntratestiküler DD, OD ve YD gruplarındaki erkek kedilerde 40. ve 60. günlerde kumpas aleti kullanılarak yapılan ölçümlerde sağ ve sol testisin hesaplanan ortalama hacminde NaCl ve kontrol gruplarında elde edilen değerlerden daha düşük ve aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Testis hacmine ait veriler incelendiğinde uygulama grupları ve kontrol grupları karşılaştırıldığında DD $ZnCl_2$ uygulanan grupta testis hacminde 20. günden itibaren yaklaşık %50 oranında bir azalma gözlenmiştir. OD ve YD $ZnCl_2$ uygulanan erkek kedilerin testis hacimlerinde ise 40. ve 60. günlerde anlamlı bir düşüş gözlenmiş, kontrol grubu ve %0,9 NaCl uygulanan grupla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak aralarındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen bu bulgular erkek kedilerde intratestiküler $CaCl_2$ uygulayan Paranzini ve ark. (2018)'nın saptadıkları testis hacmi değerleriyle benzer bulunmuştur. Altı adet erkek kedide yapılan araştırmada uygulama öncesi testis hacmi 0. gün ortalama 1,400 ± 430 mm^3 ve 80. günde 700 ± 270 mm^3 olarak saptanmış, testislerin hacimlerinde %50 oranındaki azalmayı araştırıcılar istatistiksel olarak anlamlı bulmuşlardır.

İntratestiküler uygulama öncesi (0. gün) uygulama ve kontrol grupları arasında elde edilen ortalama spermatolojik özellikler incelendiğinde; sperma hacmi, spermatozoon yoğunluğu, akrozom, orta kısım ve kuyruk bozuklukları açısından gruplar arası farklılıklar ($p<0,05$) saptanırken, motilite, pH değeri, baş ve toplam morfolojik bozukluklar açısından tüm gruplar arasında istatistiksel bir farklılık saptanmamaştır ($p>0,05$). Çalışmamızda erkek kedilerde uygulama öncesi elde edilen tüm spermatolojik özellikler normal sınırlar içerisinde değerlendirilmiştir (Axner ve Linde-Forsberg 2002).

Düşük doz $ZnCl_2$ uygulanan gruptaki erkek kedilerde (n=4) 20. ve 40. günde azoospermi, 60. gün aspermi gözlenmiştir. OD ve YD $ZnCl_2$ uygulanan gruplarda ise 20. günde spermatolojik özelliklerde düşüş ve 40. ve 60. günlerde ise azoospermi saptanmıştır. İntratestiküler %0,9 NaCl (n=4) ve hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubundaki erkek kedilerin (n=4) spermatolojik özellikleri 60. günde birbirine benzer bulunmuş ve normal sınırlar içerisinde değerlendirilmiştir. Paranzini ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada erkek kedilere intratestiküler %20 $CaCl_2$ uygulanmadan önce 0. gün ortalama ejakülat hacmi 15 ± 10 µL iken, uygulama sonrası 80. gün 6,2 ± 2,0 µL olarak saptanmıştır. Uygulama öncesi 0. gün yoğunluk 56,3 ± 21,4×10^6 sperm/mL ve motilite %65,2 ± 32,6 olarak saptanırken 80. gün azoospermi ile karşılaşılmıştır. Elde edilen bu bulgular çalışmamızda OD ve YD $ZnCl_2$ uygulanan gruplarda elde edilen değerler ile benzer bulunmuştur.

İntratestiküler DD, OD ve YD $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan testislerin 60. günde cerrahi orşiektomi sonrası testis dokusundan alınan parankim yapıları Johnsen skorlama yöntemine göre kantitatif yönden incelendiğinde;

Düşük doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan grupta Johnsen skorlama değerleri 1, 2, 3, 4 no'lu kedilerde sırasıyla; 4, 6, 3, 6 ve ortalama Johnsen skoru ise 4,75 olarak saptanmıştır. Orta doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan grupta Johnsen skorlama değerleri 1, 2, 3, 4 no'lu kedilerde sırasıyla; 1, 1, 3 ve 1 ve ortalama Johnsen skoru 1,50 olarak saptanmıştır. Yüksek doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan grupta Johnsen skorlama değerleri 1, 2, 3, 4 no'lu kedilerde sırasıyla; 3, 4, 2 ve 3 ve ortalama Johnsen skoru 3 olarak saptanmıştır. %0,9 NaCl uygulanan grupta 1, 2, 3 ve 4 no'lu kedilerde Johnsen skorlama ortalaması 8 olarak, hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubu 1, 2, 3 ve 4 no'lu kedilerde Johnsen skorlama ortalaması 10 olarak saptanmıştır.

Hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubu erkek kedilerin testislerinin histopatolojik değerlendirmesinde normal spermatogenezis ile Sertoli ve germ hücreleri arasında tipik hücresel ilişkiler görülmüştür. Leydig hücreleri normal morfolojide ve sterodojenik hücrelerin

tipik özelliklerine sahip olarak bulunmuştur. %0,9'luk NaCl uygulanan erkek kedilerin testislerinin parankimi incelendiğinde ise enjeksiyonun yapıldığı bölgede seminifer tubüllerin atrofisi ve germ hücrelerinin dejenerasyonu dışında bir bozukluğa rastlanılmamıştır.

Kedilerdeki testis parankimindeki histopatolojik değişiklikler, köpeklerin aksine testislerin bütün alanlarında, enjeksiyon bölgesine en yakın bölgedeki testis bölümlerinde ciddi morfolojik değişiklikler olarak görülmüştür. Bu durum çalışmamızda kullanılan $ZnCl_2$ konsantrasyonlarının köpeklerde kullanılan miktardan daha fazla olması sonucunda gerçekleşmiş olabilir (Oliveira ve ark. 2007; Oliveira ve ark. 2012; Oliveira ve ark. 2013).

Kontrol grubundaki testislerin seminifer tubül çapı ve epitel yüksekliği daha önce bildirilen verilere benzer bulunmuştur. Bununla birlikte ZnCl2 uygulanan kedilerde seminifer tubüllerin çapı, epitelyal yükseklik ve testis büyüklükleri uygulamadan 60 gün sonra azalmıştır. Bu parametrelerin spermatozoon üretimi ile direkt ve pozitif korelasyon gösterdiği ve kedilerde spermatogenezis süresinin ortalama 46,8 gün olması nedeniyle, çoğu kedide iki spermatojenik siklustan (120 gün) fazla sürdüğü görülmüştür. Bu nedenle çinko klorür'ün seminifer epitelyum üzerinde spesifik ve uzun süreli bir etkisi olduğu gözlemlenmektedir. Testiste yüksek konsantrasyonda çinkonun, nötrofil, makrofaj ve primer olarak CD8-pozitif lenfositlerin varlığı ile karakterize olan inflamatuvar bir reaksiyonu tetiklediği bildirilmektedir. Ayrıca, inflamatuvar hücreler çinko klorür uygulamasından artan fagositik ve sitotoksik aktiviteler gösterdiği bildirilmektedir (Fagundes ve ark. 2014). Bu nedenle çalışmamızda çinko klorür uygulanan testislerin testiküler parankiminde gözlenen inflamatuvar reaksiyonun, seminifer epitelde germ hücre ölümüne ve infertiliteyle sonuçlanacak lezyonlara neden olabileceği düşünülebilir.

Düşük, orta ve yüksek doz çinko klorür uygulanan gruplarda geniş bir bazal membran ve myoid hücrelerde proliferasyon ve seminifer tubülleri çevreleyen tunika proprianın kalınlığında artış görülmesi çinko klorür enjeksiyonunun tetiklediği bir inflamatuvar reaksiyon sonucu ve fibröz, aktif ve proliferatif fibroblastlar tarafından depo edilen intertubuler kollojen artışının bir sonucu olabileceği bildirilmektedir (Fagundes ve ark. 2014). İntratestiküler çinko klorür enjeksiyonu ile Leydig hücrelerindeki ultrastrüktürel değişikliklerin yanı sıra, intertübüler dokudaki aktive edilmiş fibroblastlar tarafından biriktirilen kollojen ile bağlantılı olarak bu hücrelerin nekrozu indüklenmiş olabilir.

Kontrol grubu, %0,9 NaCl, orta ve yüksek doz çinko klorür uygulanan erkek kedilerde 60. günde elde edilen ortalama plazma testosteron değerleri sırasıyla; 1,54±0,15 ng/ml,

1,50±0,05 ng/ml, 1,66±0,09 ng/ml ve 1,57±0,54 ng/ml olarak saptanmış ve aralarında istatistiksel bir fark bulunamamıştır ($p>0,01$). Düşük doz çinko klorür uygulanan erkek kedilerde ise ortalama plazma testosteron seviyesi 60. günde 0,25±0,16 ng/ml olarak saptanmış ve diğer uygulama gruplarıyla arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,01$). Aynı zamanda düşük doz çinko klorür uygulanan gruptaki erkek kedilerin penisindeki penil dikenciklerin 60. günde yapılan muayenelerinde küçülerek kaybolmuş olduğu ancak hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubu ve yüksek doz çinko klorür uygulanan erkek kedilerde ise penil dikenciklerin hala belirgin olduğu gözlenmiştir. Kutzler ve Wood (2006), çinko-glukonatın intratestiküler enjeksiyonu sonrası testosteronda bir düşüş olmadığını bildirmiştir. Erkek Wistar ve Sprague-Dawley sıçanlarında testis içi %20 sodyum klorür solüsyonu enjeksiyonunun etkisinin araştırıldığı (hipertonik salin) iki farklı çalışmada ise cerrahi olarak kısırlaştırma sonrası serum testosteron seviyelerinde azalma saptanmıştır (Emir ve ark. 2008; Kwak ve Lee 2013). Köpeklerde intratestiküler enjeksiyon olarak uygulanan $CaCl_2$ dozuna bağlı olarak seminifer tübüllerde atrofi, sperm sayısı ve testosteron konsantrasyonunda azalma bildirilmektedir (Jana ve Samanta 2007). Testis içi çinko glukonatın enjekte edilmesi köpeklerde kontraseptif bir yöntem olarak kullanılmıştır. Bu uygulama seminifer tubüllerin atrofisine ve spermatogenezisin bozulmasına neden olurken, intratestiküler çinko glukonat uygulamaları köpeklerin sterilizasyonunda %99,5 oranında başarılı bulunmuştur. Bununla birlikte uygulamalardan sonra plazma testosteron seviyeleri %50 oranında azalmıştır (Oliveira ve ark. 2013).

Kediler de dahil olmak üzere diğer hayvan türlerinde testis içi ideal bir kimyasal kontraseptif maddenin hayvanları infertil hale getirmesi ve aynı zamanda ikincil seks karakterlerini ve androgenezisi baskılaması beklenmektedir (Fahim ve ark. 1993). Wang (2012) köpeklerde her bir testis için 0,3 ml çinko glukonat solüsyonu önermiş, Fahim ve ark. (1993) ise çalışmalarında 0,44-0,51 ml/testis başına enjekte etmişlerdir. Çinko glukonat enjeksiyonunun neden olduğu testis hasarı, otoimmun orşitlerde gözlemlenenlere benzer testis parankimi hasarları oluşturma kabiliyeti ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, çinko glukonatın intratestiküler enjeksiyonu sonrasında farklı sınıflardaki antienflamatuvar ilaçlar/ajanlar ve sodyum metamizolün uygulandığı Wistar sıçanların kullanıldığı bir çalışmada, antienflamatuvar süreçte gecikmeler ortaya çıkmıştır. Bu bulgu çinko glukonatın inflamatuvar bir etkiden daha çok nekrozu teşvik ederek testiküler toksisiteye neden olabileceğini düşündürmektedir.

Kedilerde intratestikler çinko glukonat enjeksiyonu spermatogenezisi zayıflatmakta ve etkisi 120 gün sonra bile devam etmektedir. Bu nedenle testis sklerozu ve çinko glukonatın intratestiküler enjeksiyonu ile spermatogenezisin ortadan kaldırılması, bu bileşiğin yetişkin erkeklerde kontraseptif bir yöntem olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Testis içi çinko glukonat uygulamaları köpeklerin %4'ünde enjeksiyon sonrasında ağrı ve enjeksiyon yapılan tarafta tedavi gerektiren bir reaksiyon eşliğinde kısırlıkla sonuçlanmıştır (Levy ve ark. 2008).

Köpeklerin %80 (Olivera ve ark. 2013) ve %90'nında (Esquivel LaCroix, 2006) çinko glukonat uygulamalarından sonra azoospermi görülmüştür. Çinko glukonat uygulanan erkek kedilerin %73'ünde uygulamaların 120 gün sonrasında azoospermi rapor edilmiştir (Olivera ve ark. 2013). Bu sonuçlar değerlendirildiğinde çalışmamızda düşük-orta ve yüksek doz çinko klorür uygulanan erkek kedilerin %100'ünde 40 günün sonunda azoospermi gözlenmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bu sonuçlar, çinko klorür'ün erkek kedilerde çinko glukonat'a göre daha hızlı bir azoospermi'ye neden olduğunu ortaya koymaktadır.

Arjininle nötralize edilen çinko glukonat uygulanan erkek köpeklerin %80'ninde azoospermi'nin indüklendiği gösterilmiştir. Ortalama libido düzeyleri 150 günlük bir periyotta aynı iken testosteronun dolaşımındaki miktarları uygulama yapılan köpeklerde (n=10), kontrol köpeklerine (n=5) oranla düşme eğiliminde olduğu saptanmıştır (Olivera ve ark. 2013). Bizim çalışmamızda da azoospermi ile birlikte elde edilen testosteron değerleri yalnızca düşük doz uygulanan erkek kedilerde 20., 40. ve 60. günün sonunda uygulama öncesi elde edilen değerlerden daha düşük saptanmıştır ($p<0,05$). Bu sonuç Olivera ve ark. (2013)'larının elde ettikleri testosteron değerleriyle paralel bulunmuştur. Hiçbir uygulama yapılmayan kontrol grubu, %0,9 NaCl, orta ve yüksek doz çinko klorür uygulanan erkek kedilerde ise testosteron değerlerinde herhangi bir farklılık saptanmamıştır.

Cerrahi kastre edilmiş, çinko glukonat uygulanmış ve hiçbir uygulama yapılmamış sokak köpeklerini de kapsayan bir çalışmada, köpekler arasında kan testosteron konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu çalışmalar bize hayvanlarda testosteron düzeylerinin uygulama yapılanlarda, yapılmayanlardan daha az olduğunu ancak hala erkek davranışlarına yetecek kadar testosteronun yüksek olduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalarda çinko glukonat ile ilgili istenmeyen yan etkilerinin küçük yüzdelerle de olsa rapor edilmiştir (Tepsumethanon ve ark. 2005; Olivera ve ark. 2013).

İntratestiküler çinko klorür uygulamasının erkek kedilerde stres oluşturup oluşturmadığını belirlemede bir belirteç olarak serum kortizol seviyeleri ölçülmektedir (Cohen ve ark. 1990). Çinko klorür uygulanan ve uygulanmayan kontrol grubu erkek kedilerde serum kortizol düzeylerinde önemli bir değişiklik olmadığından herhangi bir genel stres tepkisinin oluşmadığı görülmektedir. Bu tablo çoğu araştırıcının farklı kimyasal maddeleri denediği çoğu çalışmadaki serum kortizol seviyeleriyle benzer bulunmuştur (Jana ve ark., 2005; Jana ve Samanta, 2011).

Bildirilen istenmeyen yan etkilerden testiküler ödem genellikle ilk 24-48 saat, skrotal ağrı (%63, n=270) ve nekrozlu orşit ve skrotal ülserasyon (%1-6) olarak bildirilmiştir (US FDA 2003; Esquivel LaCroix, 2006; Levy ve ark., 2008; Forzan ve ark., 2014). Sık karşılaşılmayan kusma (%4,4), anoreksi (%4), letharji (%2,2), lökositozis ve anormal vücut duruşu olarak bildirilmiştir (US FDA 2003). Sulu veya alkol bazlı bir kalsiyum klorid bileşiği de köpekler (Jana ve Samanta, 2007), kedilerde (Baran ve ark. 2010) kullanılmıştır. İstenmeyen yan etkiler olarak gösterilen lokal ödem gibi bulguların uygulama sonrası 4-5 haftada yok olduğunu görülmüştür (Jana ve ark., 2005; Jana ve Samanta, 2011). Duyusal sinir uçlarının testis parankiminde sonlanması nedeniyle, uygulama sırasında ağrı hissi minimal düzeyde olmuştur (Jana ve Samanta, 2007). Ancak enjeksiyon yapılırken kullanılan bileşik testis parankiminden skrotal boşluğa kaçarsa veya tunika albugineanın şişmesi ile sonuçlanırsa bir ağrı ortaya çıkabilmektedir. Kalsiyum klorür uygulamaları yapılan köpeklerde (Leoci ve ark., 2014a) skrotal ülserasyon ve testis nekrozları bildirilmiştir (Jana ve ark., 2005). Kalsiyum klorürün fizyolojik tuzlu su içindeki 10-40 mg/kg vücut ağırlığı/testis arasındaki dozlarının testis içi uygulanması sonrası testis ağırlıklarında önemli oranda azalma gözlenmiştir. Benzer şekilde, kedilerde testiküler kitlenin vücut ağırlığına oranı, %10 veya %20'lik solüsyonların uygulandığı kedilerde, %5'lik solüsyon uygulananlara oranla belirgin şekilde daha düşük bulunmuştur (Jana ve Samanta, 2011). Bununla birlikte, dikkate alınması gereken sınırlayıcı faktör, bu çalışmaların bulgularının yorumlanması sırasında, hayvanlar arasındaki testiküler büyüklüğün varyasyonlarının sonuçları karıştırdığı ve bu yüzden bu tür çalışmalarda vücut ağırlığından çok testis büyüklüğüne dayalı olarak farklı dozlar hesaplanıp ve bu dozlar uygulanarak çalışmaların daha iyi değerlendirilebileceğidir.

Kalsiyum klorür ve çinko bazlı kemosterilizan'ların uygulanmasına yönelik yanıt oranlarındaki çeşitlilik, doz oranları, konsantrasyonları, seyrelticiler, testis büyüklüğü ve enjeksiyon tekniklerindeki farklılıklar ile ilişkilendirilmiştir (Jana ve Samanta, 2007; Leoci ve

ark. 2014a, b; US FDA, 2003). Jana ve Samanta, (2007) fizyolojik tuzlu su ve 5, 10, 15 veya 20 mg'lık kalsiyum klorür solüsyonları uygulanan köpeklerin epididimis'lerinden elde edilen spermatozoonlarda progresif motilitede bir azalma bildirmişlerdir. Her uygulama grubunda elde edilen spermatozoon sayıları sırasıyla 8,350±630, 1,810±245, 128±32, 46±32 ve 21±5 olarak saptanmıştır. Kalsiyum klorid'in farklı konsantrasyonlarda ve farklı baz solüsyonlarda (salin, lignokain ve alkol) uygulanmıştır. Kalsiyum klorür'ün sulu bir bazdan çok alkol ile dilüe edildiği bileşiklerin uygulandığı erkek köpeklerde daha tutarlı sonuçlar elde edilmiştir (Leoci ve ark. 2014b). Salin içindeki kalsiyum klorür solüsyonlarının sırasıyla %10, %20, %30 ve %60'lık konsantrasyonlarının uygulandığı köpeklerde (n=10/tedavi), elde edilen sperma numunelerinde; motilite, testis büyüklüğü ve testosteronun kan dolaşımdaki miktarlarında doza bağlı bir supresyon tespit edilmiştir (Leoci ve ark. 2014b). Azoospermi en azından 12 boyunca sırasıyla; %10, %20, %30 uygulanan grupların %60, %80 ve %100'ünde gözlemlenmiştir. Düşük dozlarda herhangi bir yan etki görülmemiştir. Bu da muhtemelen geniş doku nekrozuna neden olmaksızın, spermatogenezis için gerekli olan hücrelerin sitotoksisitesini indükleyen düşük doz uygulamalarına bağlı olabilir.

Bir diğer çalışmada erkek köpeklere %1'lik lidokain solüsyonu (n=21) veya %95'lik bir etanol solüsyonu (n=21) veya salin (n=10) içinde %20'lik bir kalsiyum klorür çözeltisi uygulanmış ve uygulamalardan 12 ay sonra alkol ve lidokain bazlı solüsyonlar uygulanan köpeklerin %100 ve %81'i azoospermiye sahip iken, alkol bazlı solüsyon uygulanan köpeklerde kan testosteron düzeyleri çok daha düşük iken, lidokain bazlı solüsyon uygulanan köpeklerde salin bazlı solüsyon uygulananlara oranla orta düzeyde saptanmış ve herhangi bir zararlı yan etki de görülmemiştir. Kalsiyum klorürün alkol bazlı solüsyonlarda çözülmesi ile elde edilen solüsyonların uygulandığı erkek köpeklerde etkili bir kısırlık elde edilebileceği kanısına varılmıştır. Elde edilen sonuçlar, alkol bazlı %20'lik bir solüsyonun etkinliği ve uygulama sonrası ağrı ve skrotal lezyonlar gibi olumsuz yan etkileri bağlamında optimal olacağına işaret etmektedir (Leoci ve ark. 2014b).

Kimyasal sterilizanların aşırı dozda uygulanması, kimyasal maddenin testislerden dışarı çıkarak, tunika vajinalis'in viseral ve pariyetal tabakaları arasındaki bölgeye sızmasıyla sonuçlanmıştır. Kemosterilizanların çevre dokulara sızmasını önlemek amacıyla çinko glukonat için uygulama önerilerinde bulunulmuştur (Ark Sciences, 2014) Kalsiyum klorürün de uygulanması ile skrotal ülserasyon ve testis nekrozu gibi yan etkilerde benzerlik gözlemlendiği için bu tavsiyeler kalsiyum klorür bazlı kemosterilizanların kullanımı için de geçerlidir.

Erkeklerde kedilerde kemosterilizanların kullanımını düzenleyen ilkeler şöyle sıralanabilir;

1- Erkek kedilerin uygulama sırasında hareket etmesini engellemek ve kimyasal maddenin sadece testis içine enjeksiyonunu sağlamak için hayvanlar genel anesteziye alınmalıdır.
2- Her bir testise yapılacak enjeksiyonda yeni ve küçük çaplı bir iğne kullanılmalı (kedi için 26-27 gauge) ve enjeksiyon sırasında testislerin altındaki deriyi tutmaktan çok testislerin kendisini tutmaya çalışmalı ve hafifçe basınç yapılmalıdır.
3- Testis içine njeksiyon sırasında skrotal kese veya deri içerisine kimyasal maddenin kaçırılmasına müsaade edilmemelidir.
4- Kemosterilizan madde testis içerisine yavaşça ve kontrollü olarak enjekte edilmelidir.
5- Uygulanan kimyasal maddenin hacmi her testisin büyüklüğüne göre kedilerde 0,20-0,25 ml aralığında ayarlanmalıdır.
6- Enjeksiyonun tamamlanmasından sonra 3 saniye kadar bir duraklama yapılıp skrotal boşluğa kaçıp fistül oluşumunu engellemek için iğne hızla geri çıkarılmalıdır.

Köpeklerde ırklara göre vücut ağırlığı ve testis büyüklüğü değişken olmasından dolayı, uygulanacak dozun testiküler genişliğe göre ayarlanması zorunludur ve çinko glukonat uygulamalarından 6 ay sonra köpeklerin %99,1 inde (221/224) aspermi, azoospermi veya nekrospermi gelişmiştir (US FDA, 2003).

Kemosterilizan maddelerin kullanımı köpeklerde hızlı, kalıcı ve ekonomik ve popülasyon kontrolünde önemli bir yol olarak görülmektedir. Enjeksiyon tekniğine dikkat etmek ve testis büyüklüğüne göre doz ayarlamak, yeterli yanıtı sağlamak ve ağrı ve skrotal nekroz gibi tahammül edilemez yan etkileri önlemek için gereklidir.

Arjininle nötralize edilen çinko glukonat ile kimyasal kastrasyona tabi tutulan köpeklerin, cerrahi kastrasyona tabi tutulanlara oranla post-operatif takip ve tıbbi tedaviye ihtiyaçları azalmış, 270 köpekten sadece 1'inde (%0,4) ülser oluşumu bildirilmiştir (US FDA 2003). Bu tür komplikasyonlar enjeksiyonlardan 3, 7 ve 17. günlerde görülmüş ve ürün taşıt maddelerinin, belirlediği bu eritem enjeksiyonlardan 1-2 gün sonra başlayan ve 2-3 gün sonrasında ülsere dönüştüğü gözlenmiştir (Ark Science 2014). Bu bulgular mevcut ve daha önceki çalışmalar ile bildirilenlerle tutarsızdır (Levy ve ark. 2008; Forzan ve ark., 2014). Cerrahi olarak kastre edilmiş köpeklerin yaklaşık olarak %2'sinde yara açılırken; benzer bir popülasyonun önceki tıbbi kayıt incelemelerinde bu oran %3,4 olarak bildirilmiştir (Levy ve ark. 2008). Bu bildiride kimyasal kastrasyon uygulanan hayvanların %3,9'una cerrahi müdahale gerektiği bildirilmiştir. Bu nekrotik lezyonlar enjeksiyonlardan 4-6 gün sonra tespit

edilmiştir. Bir başka raporda çinko glukonat çözeltisi ile yapılan kimyasal kastrasyonun takip eden 7-8 gün sonra köpeklerin %5,5'inde nekro-suppuratif orşitis ve ülseratif dermatitis bildirilmiştir (Forzan ve ark. 2014).

Prepubertal gonadektomi kedi popülasyonunu güvenli ve etkili bir şekilde kontrol eder. Erken yaşta kısırlaştırmanın avantajları, risklerini göze almaktan daha ağır basmaktadır. Bununla birlikte erken yaşta kısırlaştırmanın uzun dönem etkilerinin hala araştırılması gereklidir (Concannon ve Meyers-Wallen 1991). Klinik takibin daha sınırlı olduğu kliniklerde en düşük komplikasyona sahip kısırlaştırma yöntemleri tercih edilmektedir. Cerrahi kastrasyonu takip eden komplikasyonların sıklığı (%41,8) yüksektir. Standart veteriner cerrahi kliniklerinde tercih edilen kısırlaştırma ameliyatı sonrası komplikasyon oranları %2,5 ile %8,5 arasındadır. (Vasseur ve ark. 1988). Cerrahi prosedürlerin uygulandığı kliniklerdeki operasyon öncesi asepsi kurallarının ve uygulamalarının çeşitlilik gösterdiği ve standart kılavuzlara uyulmadığı görülmüştür (Griffin ve ark. 2016). Bununla birlikte kimyasal kastrasyon protokolünün efektif olarak değerlendirilmesi yönündeki fizibilitenin, kliniklerde cerrahi prosedürlere uyularak gerçekleştirilen kastrasyonlardaki ortaya çıkan komplikasyonlarla karşılaştırılması çok önemlidir. Bunlar hastanın hazırlanması, cerrah, cerrahi aletler, dokulara müdahele ve kullanılan cerrahi yöntemdir. Bu prosedürlerin hem hayvan popülasyonlarının hem de bireysel olarak hayvanların refahı üzerindeki etkileri ışığında yürütülmesi risk-fayda oranı anlamında değerlendirilmelidir. Kullanılan analjezik protokoller de cerrahi olarak kastre edilen köpeklerdeki yüksek post-operatif komplikasyonlara neden olabilecek faktörlerdir. Tramadol'ün elektif kısırlaştırma için efektif bir analjezik olduğu gösterilmiş olmasına rağmen (Kongara ve ark. 2013; Morgaz ve ark. 2013), yeni yapılan çalışmalarda bu etken maddelerin etkilerini, etkisinde oluşan değişiklikleri ve etki süresini köpeklerde sorgulamaktadır (Davila ve ark. 2013; Delgado ve ark. 2014; Benitez ve ark. 2015). Bütün bu etkiler cerrahi olarak kastre edilen hayvanlarda post-operatif rahatsızlıkları ve kendine zarar verme olasılıklarının artmasına katkıda bulunabilmektedir. Kimyasal kastrasyon uygulanan köpeklerde oluşan ve daha az müdahele gerektiren komplikasyonların şiddetine dair de bazı hususlar bilinmelidir. Her ne kadar bazı ağrı ve rahatsızlıkların her gruptaki komplikasyonlar ile ilişkili olduğu ve tedavi sağlandığı düşünülse de bu komplikasyonların hayvan refahına etkilerini doğrudan ölçmek için herhangi bir girişim yapılmamıştır. Benzer şekilde, kimyasal kastrasyondan kaynaklanan cerrahi komplikasyon olarak skrotal ülserasyonu olan, medikal tedaviyi takip eden ikinci bir veteriner prosedürü (skrotal ablasyon ile cerrahi kastrasyon) uygulanmış bir hasta, cerrahi

kastrasyon yapılmış bir hastaya oranla çok daha fazla ağrılı ve rahatsızlık verici durum yaşamıştır.

Kimyasal ve cerrahi kastrasyon kullanımını değerlendiren veteriner hekimler, hastalar üzerindeki riskleri ve kazançları, her tedavi yönetiminin etkilerini göz önünde bulundurmalıdır. Bu tür karar verme süreçlerinin sonuçlarını değerlendirmek için, uygulama yapılmış veya yapılmamış hayvanların refah düzeylerinin incelenmesi, bazı sonuçların diğerlerine göre öncelendirilmesi veya bunların bir kombinasyonu olmak üzere çeşitli stratejiler üretilebilir (Yeates, 2013). İntratestiküler uygulamaların her biri uygun enjeksiyon tekniği eğitimi almış uygulayıcılar tarafından yapılmış olmasına ve teknikte klinik bir farklılık olmamasına rağmen, intratestiküler enjeksiyonların etkinliğinde değişimler gözlenmiş ve skrotal ülserasyonlu iki olguda çinko glukonat farklı kişiler tarafından uygulanmıştır. Cerrahi kastrasyon hem bireysel olarak kedi ve köpeklerde ve popülasyon sağlığı anlamında ve hem de hayvan refahına etkileri anlamında sonuçları iyi bilinmektedir. Gerekli maliyet, teçhizat ve uzmanlık dünyanın pek çok yerinde uygulanma sıklığını sınırlandırmaktadır. Cerrahi olmayan kısırlaştırma yöntemleri, bu engellerin bir kısmının üstesinden gelmenin pratik bir yolu olabilir ve hayvanların fertilitesini kontrol etme seçeneklerini genişletebilir (Griffin 2013; ACC&D 2013).

Köpeklerde DMSO (dimetil sülfoksit) içeren ya da içermeyen klorhekzidin glukonat, formalin ve DMSO içinde etilselüloz, etilselüloz içinde klorhekzidin, çinko tannat, çinko arjinin ve DMSO içinde çözündürülmüş acrilik hidrojel N-50 ve N-90 kimyasal sterilizan olarak değerlendirilmiştir. Klorhekzidin diglukonatın solüsyonları kedilere enjekte edilmiş fakat sonuçlar tutarsız bulunmuştur. Bahsi geçen kimyasal sterilizanlar tutarsız sonuçlar ve oluşan doku reaksiyonları nedeniyle de kimyasal sterilizasyon yöntemi olarak geliştirilememişlerdir (Olson ve Johnstone 1993).

Nötralize edilmiş çinko arjinin hariç diğer kimyasal sterilizanların kedilerde kullanımı geliştirilememiş ve değerlendirilmemiştir (Concannon ve Meyers-Wallen 1991). Kimyasal sterilizanların testislere, duktus deferenslere veya epididimal kanala enjeksiyonu sonucunda kalıcı azoospermi, testislerin fiziksel yapısındaki değişiklikler ve testosteron üretimindeki değişikliklerle sonuçlanmaktadır. Eğer bir kimyasal sterilizan testislere enjekte edilirse, androjen hormonu üretimi azalmaktadır. Böylece; prostat hastalıkları, davranış problemleri (idrarla işaretleme, ısırma, diğer erkeklere karşı agresyon ve saldırma) ve gonadal hastalık ihtimali de ortadan kalkmaktadır. Eğer bu kimyasal sterilizanlar duktus deferenslere ve

epididimislere enjekte edilirse azoospermi ile sonuçlanabilmektedir (Olson ve Johnstone 1993; Concannon ve Meyers-Wallen 1991).

Arjinin ile nötralize edilmiş bir kimyasal sterilizan olarak çinko glukonat kedi ve köpeklerde testis içi kimyasal sterilizan olarak kullanılmaktadır. Bu kimyasalın testislere ve epididimislere enjeksiyonu erkeklerde ikincil cinsel özelliklerin gelişmesine engel olmadan kısırlık ile sonuçlanmaktadır. Çinko arjinin seminiferöz tubullerde atrofiye, nedbe dokusunun oluşmasına ve rete testislerin atrofiye olmasına, epididimislerin baş ve boyun kısımlarının formasyonlarının bozulmasına ve spermatozoonların maturasyon ve üretim mekanizmasının bozulmasıyla oluşur. Testislerde çinko iyonlarının konsantrasyonlarının artması, germinal hücrelerin bölünme ve kopyalanmalarını inhibe etmekte, hücre membranı ve nükleusun parçalanmasına sebep olmaktadır (Concannon ve Meyers-Wallen 1991). Yukarıda gözlenen etkiler çalışmamızda erkek kedilerde intratestiküler olarak kullanılan çinko klorür solüsyonu ile gözlenen etkilerle benzer bir mekanizma göstermiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Erkek kedilerde her bir testis hacmine göre standart 0,2 mL hacimde bir dozlama ile düşük-orta ve yüksek doz $ZnCl_2$ solüsyonu uygulanan tüm gruplarda, seminifer tübüllerin yapısına ciddi oranda zarar vermiş ve azoospermi ile birlikte aspermi'ye yol açarak da etkisini kanıtlamış ve hayvanlarda gerek fizyolojik gerekse testis üzerinde herhangi bir komplikasyon riski oluşturmamıştır.

Erkek kedilerde testis içine tek doz bilateral intratestiküler $ZnCl_2$ enjeksiyonunun kısırlaştırmada etkili olarak kullanılabilnesinin yanında, klinik uygulamasa ekonomik oluşu ve uygulama kolaylığı ile cerrahi kısırlaştırmaya alternatif olabileceği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasının süreli olması nedeniyle değerlendirilmesi yapılamayan ve intratestiküler $ZnCl_2$ enjeksiyonunun uygulanması sonrası erkek kedilerin testisleri üzerindeki uzun süreli (1-2 yıl) etkilerinin (testis büyüklüğü ve testis dokusundaki histopatolojik gelişim ve testosteron üretimi vb.) araştırılarak olumsuz etkisinin olup olmadığının ortaya konması büyük bir önem arz etmektedir.

Ayrıca, çinko klorür'ün testis içi uygulanması sonrası oluşabilecek yan etkiler için risk faktörlerini belirlemek ve bunlardan kaçınma stratejilerini geliştirmek için daha fazla erkek kedi üzerinde yapılacak denemelere de ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

ACC&D (Alliance for Contraception in Cats and Dogs) (2013): Contraception and fertility control in dogs and cats. E-book.

Aitken RNC ve Aughey E (1964): A histochemical study of the accessory genital glands of the male cat. Res Vet Sci, 5: 268-273.

Aiudi G, Silvestre F, Leoci R ve Lacalandra GM (2010): Single Testicular Injection of Chlorhexidine Solution as Chemical Sterilant in Dogs, 4th International Symposium on Non-Surgical Contraceptive Methods of Pet Population Control, Dallas, USA.

Allen WE (1992): Fertility and Obstetrics in the Dog. Blackwell Scientific Publication, London.

Ark Sciences (2014): Zeuterin^{TM} Training Manual, Ark Sciences, Inc. p. 9.

Aronson LR ve Cooper ML (1966): Seasonal variation in maiting behavior in cats after desensitization of glans penis. Science, 152: 226-230.

Aronson LR ve Cooper ML (1967): Penile spines of the domestic cat: Their endocrine-behavior relations. Anat Rec, 157: 71-78.

Atiken RJ, Paterson M ve van Duin M (1996): The potential of the zona pellucida as a target for immunocontraception. Am J Reprod Immunol, 35: 175-180.

Aughey E (1970): Zinc in the cat prostate. J Repro Fertil 22: 65-68.

Aughey E (1973): The ultrastructure of the prostate gland in the cat. J Reprod Fertil, 33: 351-352.

Axner E ve Linde–Forsberg C (2002): Semen collection and assessment, and artifificial insemination in the cat. In: Recent advances in small animal reproduction (http://www.ivis.org).

Bakir B, Gulyuz F, Karaca F, Yuksel H, Sahin A ve Uslu BA (2002): Chemical castration in dogs. YYU J Healthy Sci, 8 (1-2), 6-9

Baran A, Bacinoğlu S, Evecen M, Şahin BE, Alkan S, Demir K, Ak K ve İeri İK (2004): Freezing of cat semen ın straws with different glycerol levels containing tris extender, Turkish J Vet Anim Sci, 28: 545-552.

Baran A, Ozdas O, Gulcubuk A, Hamzaoglu A ve Tonguç M (2010): Pilot study: intratesticular injection induces sterility in male cats. Proceedings of the 4th International Symposium on Non-Surgical Methods of Pet Population Control; 2010 April 8-10; Dallas, TX, USA. Alliance for Contraception in Cats & dogs (abstract).

Baran A (2013): Intratesticular chemical castration techniques in dogs and cats, Treatment in clinical conditions and results, 8. Turkish Small Animal Veterinary Assocation Congress, 8-9 Kasım 2013, pp.141-142, İstanbul, Türkiye.

Baran A (2016): Erkek kedi ve köpeklerde üremenin önlenmesi, Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics, 2 (2): 9-18.

Bascom KF ve Osterud HL (1925): Quantative studies of the testicle. II. Pattern and total tubule lenght in testicles of certain common mammals. Anat Rec, 31: 159-169.

Beaver BV (1977): Mating behavior in the cat. Vet Clin North Am, 16: 729-733.

Beaver BV (1992): Feline Behavior: A Guide for Veterinarians. Philadelphia, WB Saunders, p 121.

Benitez ME, Roush JK, McMurphy R, KuKanich B ve Legallet C (2015): Clinical efficacy of hydrocodone and tramadol administered for control of postoperative pain in dogs following tibial plateau leveling osteotomy. Am J Vet Res, 76 (9): 755-62.

Bertschinger HJ, Asa CS, Calle PP, Long JA, Bauman K, DeMatteo K, Jöchle W, Trigg TE ve Human A (2001): Control of reproduction and sex related behaviour in exotic wild carnivores with the GnRH analogue deslorelin: preliminary observations. J Reprod Fertil Suppl, 57: 275-283.

Bertschinger HJ, Trigg TE, Jöchle W ve Human A (2002): Induction of contraception in some African wild carnivores by downregulation of LH and FSH secretionusing the GnRH analogue deslorelin. Reprod Suppl, 60: 41-52.

Bland KP (1979): Tom-cat odour and others pheromones in feline reproduction. Vet Sci Comm, 3: 125-136.

Bloom F (1954): Pathology of the dog and cat. American Veterinary Public. Inc, Evanston, IL

Bloomberg MS (1996): Surigical neutering and non-surgical alternatives. J Am Vet Med Assoc, 208: 517-519.

Boothe HW (1993): Testes and epididymides. In Slatter D (ed): Textbook of Small Animal Surgery, 2nd ed. S. 1325-1336, WB Saunders, Philadelphia.

Brown G (2003): Advances in reproductive control technology, Urban Animal Management Conference Proceedings, Australia.

Burgos MH ve Fawcett DW (1955): Studies on the fine structure of the mammalian testis. I. Differentiation of the spermatid in the cat (Felis domesticus). J Biophys Biochem Cytol, 1: 287-300.

Canpolat I, Bulut S, Gunay C, Eroksuz H ve Gur S (2006): An evaluation of the outcome of bull castration by intra-testicular injection of ethanol and calcium chloride, Revue Med Vet, 157, 420-425.

Canpolat I, Karabulut E ve Eroksuz Y (2016): Chemical castration of adult and non-adult male dogs with Sodium chloride solution. IOSR J Agr Vet Sci, 9 (12): 9-11.

Carter KK, Chakraborty PK, Bush M ve Wildt DE (1984): Effects of electroejaculation and ketamine HCL on serum cortisol, progesteron and testosterone in the male cat. J Androl, 5: 431-437.

Cavalieri J (2017): Chemical sterilisation of animals: A review of the use of zinc- and $CaCl_2$ based solutions in male and female animals and factors likely to improve responses to treatment. Anim Reprod Sci, 181:1-8.

Christiansen IBJ (1984): Reproduction in the dog and cat. Bailliere Tindall, London.

Cohen RDH, King BD, Thomas LR ve Janzen ED (1990): Efficacy and stress of chemical versus surgical castration of cattle. Can J Anim Sci, 70: 1063-1072.

Concannon PW ve Meyers-Wallen VN (1991): Current and proposed methods for contraception and termination of pregnancy in dogs and cats. J Am Vet Med Assoc, 198: 1214-1225.

Cooper ML ve Aronson LR (1969): Behavorial implications of a histological study of the sensory innervation of the glans penis of intact and castrated cats. Am Zool, 9: 570.

Crenshaw WE ve Carter CN (1995): Should dogs in animal shelters be neutered early? Vet Med, 90 (8): 758-760.

Crouch JE (1969): Text-Atlas of Cat Anatomy, Lea & Febriger, Philadelphia.

Cullen WC, Fletcher TF ve Bradley WF (1983): Morphometry of the mal efeline pelvic urethra. J Urol, 129: 186-189.

Davidson AP ve Baker TW (2009): Reproductive Ultrasound of the Dog and Tom. Topics in Companion Anim Med, 24: 2, 64-70.

Davila D, Keeshen TP, Evans RB ve Conzemius MG (2013): Comparison of the analgesic efficacy of perioperative firocoxib and tramadol administration in dogs undergoing tibial plateau leveling osteotomy. J Am Vet Med Assoc, 243, 225-231.

Dayanti MD, Berata IK ve Puja IK (2021): Sperm quality and histology of the testis and epididymis in chemical castrated male cats with intra-testicular injection of sodium chloride solution. World Vet J, 11 (4): 634-541.

Delgado C, Bentley E, Hetzel S ve Smith LJ (2014): Carprofen provides better post- operative analgesia than tramadol in dogs after enucleation: a randomized, masked clinical trial. J Am Vet Med Assoc, 245: 1375-1381.

Dixit VP, Lohiya NK, Arya M ve Agrawal M (1975a): Reversible changes in the testes and epididymides of dog treated with alpha-chlorohydrin. Acta Biol Med Ger, 34: 1851-1856.

Dixit VP, Lohiya NK, Arya M ve Agrawal M (1975b): Chemical sterilization of male dogs after a single intra-testicular injection of "Danazol", Folia Biol (Krakow), 23 (3): 305-310.

Dixit VP, Lohiya NK, Arya M ve Agrawal M (1975c): The effects of chemical occlusion of vas deferens on the testicular function of dog: a preliminary study. Acta Eur Fertil, (6): 348-853.

Dixit VP (1979): Chemical sterilization of male dogs (Canis familiaris) after single intratesticular administration of methallibure (ICI-33828), dexamethasone, metopiron (SU-4885, Ciba), niridazole (33644-Ba, Ciba), alpha-chlorohydrin (U-5897) & danazol. Ind J Exp Biol, 17:937-940.

Dixit VP ve Bhargava SK (1983): Reversible contraception like activity of embelin in male dogs (Canine indicus Linn) Andrologia, 15: 486-494.

Dooley MP ve Pineda MH (1986): Effect of method of collection on seminal characteristics of the domestic cat. Am J Vet Res, 47: 286-292.

Dooley MP, Pineda MH, Hopper JG ve Hsu WH (1991): Retrograde flow of spermatozoa into urinary bladder of cat during electroejaculation, collection of semen with an artificial vagina, and mating. Am J Vet Res, 52: 687-691.

Downes SJT (1969): Vasectomy of a tomcat. Vet Rec, 84: 672.

Dubé D, Assaf A, Pelletier G ve Labrie F (1987): Morphological study of the effects of a GnRH agonist on the canine testis after 4 months of treatment and recovery. Acta Endocrinol (Copenh); 116: 413-417.

Emir L, Dadali M, Sunay M, Erol D, Caydere M ve Ustün H (2008): Chemical castration with intratesticular injection of 20% hypertonic saline: A minimally invasive method. Urologic Oncology, 26 (4): 392-396.

England GCW (1997): Effect of progestogens and androgens upon spermatogenesis and steroidogenesis in dogs. J Reprod Fertil Suppl, 51: 123-138.

Esquivel LaCroix C (2006): Evaluation of a single intratesticular injection of zinc gluconate neutralized by Arginine (Neutersol®) as a chemical sterilant in sexually mature, male dogs. In: Proceedings of the 3rd ACC&D International Symposium on Non-surgical contraceptive methods for Pet Population Control; 2006. http://www.acc-d.org/ACCD%20Symposia, Erişim Tarihi: 28.04.2022.

Faggella AM ve Aronsohn MG (1993): Anesthetic techniques for neutering 6- to 14-week-old kittens. J Am Vet Med Assoc, 202: 56-62.

Fagundes AKF, Oliveira EC, Tenorio BM, Melo CC, Nery LT, Santos FAB, Alves LC, Douglas RH ve Silva Jr VA (2014): Injection of chemical castration agent, zinc gluconate, into the testes of cats results in the impairment of spermatogenesis: A potentially irreversible contraceptive approach for this species. Theriogenology, 81(2): 230-236.

Fahim MS, Wang M, Sutcu MF, Fahim Z ve Youngquist RS (1993): Sterilization of dogs with intra-epididymal injection of zinc arginine, Contraception, 47 (1), 107-122.

Fahim MS, Fahim Z, Harman J Thompson I, Montie J ve Hall DG (1977): Ultrasound as a new method of male contraception. Fertil Steril, 28: 823-31.

Ferro VA, Khan MA, McAdam D, Colston A, Aughey E, Mullen AB, Waterston MM ve Harvey MJA (2004): Efficacy of an anti-fertility vaccine based on mammalian gonadotrphin releasing hormone (GNRH-I) a hitological comparison in male animals. Vet Immunol Immunopathol, 101: 73-86.

Fletcher TF (1974): Anatomy of pelvic viscera. Vet Clin North Am, 4: 471-486.

Freshman JL, Olson PN, Amaan RP, Carlson ED, Twedt DC ve Bowen RA (1990): The effects of methyltestosteron on reproductive function in male greyhounds. Theriogenology, 33: 1057-73.

Flockhart DTT ve Coe JB (2018): Multistate matrix population model to assess the contributions and impacts on population abundance of domestic cats in urban areas including owned cats, unowned cats, and cats in shelters. PLoS One, 13 (2): e0192139.

Forzan MJ, Garde E, Pérez GE ve Vanderstichel RV (2014): Necrosuppurative orchitis and scrotal necrotizing dermatitis following intratesticular administratin of zinc gluconate neutralized with argining (EsterilSol) in 2 mixed-breed dogs. Vet Pathol, 51, 820-823.

Gerber HA, Jochle W ve Sulman FG (1973): Control of reproduction and of undesirable social and sexual behavior in dogs and cats. J Small Anim Pract, 14: 151-158.

Goodpasture JC, Bergstrom K ve Vickery BH (1988): Potentiation of the gonadotoxicity of cytoxan in the dog by adjuvant treatment with an LHRH agonist. Cancer Res, 48: 2174-2178.

Goodrowe KL, Charaborty PK ve Wildt DE (1985): Pituitary and gonadal response to exogenous LH-releasing hormone in the male domestic cat. J Endocrinol, 105: 175-181.

Goodrowe KL, Howard JG, Schmidt PM ve Wildt DE (1989): Reproductive biology of the domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and in-vitro fertilization. J Reprod Fertil Suppl, 39: 79-90.

Goodrowe KL ve Hay M (1993): Characteristics and zona binding ability of fresh and cooled domestic cat epidydimal spermatozoa. Theriogenology, 40: 967-975.

Griffin B (2013): Nonsurgical sterilization of cats and dogs, Shelter Medicine for Veterinarians and Staff. Second Ed. Wiley-Blackwell, Ames, IA, USA, pp. 689-696.

Griffin B, Bushby PA, McCobb E, White SC, Rigdon-Brestle YK, Appel LD, Makolinski KV, Wilford CL, Bohling MW, Eddlestone SM, Farrell KA, Ferguson N, Harrison K, Howe LM, Isaza NM, Levy JK, Looney A, Moyer MR, Robertson SA ve Tyson K (2016): The Association of Shelter Veterinarians' 2016 Veterinary Medical Care Guidelines for Spay-Neuter Programs. J Am Vet Med Assoc, 246: 165-188.

Gobello C (2007): New GnRH analogs in canine reproduction. Anim Reprod Sci, 100: 1-13.

Hart BL (1973): Behavorial effects of castration. Feline Pract, 3:10-12.

Hart BL ve Barrett RE (1973): Effects of castration on fighting, roaming and uriner spraying in adult male cats. J Am Vet Assoc, 163: 290-292.

Hart BL (1974): Behavorial effects of long-acting progestins. Feline Pract, 4: 8-11.

Hart BL ve Voith VL (1977): Sexual behavior and breeding problems in cats. Feline Pract, 7: 9-12.

Hart BL (1977): Agression in cats. Feline Pract, 7: 22-28.

Hart BL (1979): Problems with objectionable sociosexual behavior of dogs and cats: Therapeutic use of castration and progestins. Compend Contin Educ Pract Vet, 1: 461-465.

Hart BL ve Cooper L (1984): Factors relating to urine spraying and fighting in prepuberally gonadectomized cats. J Am Vet Med Assoc, 184: 1255-1258.

Hart BL ve Leedy MG (1987): Stimulus and hormonal determinants of flehmen behavior in cats. Hormones Behav, 21: 44-52.

Heiberg JK ve Svejgard E (1981): Toxic hepatitis during ketoconazole treatment. Br Med J, 283:825-826.

Henik RA, Olson PN ve Rosychuk RA (1985): Progestin therapy in cats. Compend Contin Educ Pract Vet, 7: 132-143.

Herron MA (1970): The effect of prepuberal castration on the lumen and periurethral tissue of the penile urethra of the cat. MS Thesis, College Station, TX, Texas A&M University.

Herron MA (1971): A potential consequence of prepuberal feline castration. Feline Pract, 1: 17-19.

Herron MA (1972): The effect of prepuberal castration on the penile urethra of the cat. J Am Vet Med Assoc, 160: 208-211.

Hewitt D (1998): Physiology and Endocrinology of the Male. İçinde G. Simpson (Ed.). Manual of Small Animal Reproduction and Neonatology. p. 61-69, British Small Animal Veterinary Association.

Hochereau-de-Reviers MT, Coutens JL, Courat M ve de Reviers M (1990): In: Marshall's Physiology of Reproduction, ed. G.E. Lamning, Vol.2, pp 106-182 Edinburgh: Churchill Livingstone.

Hoskins JD (2001): Veterinary Pediatrics: dogs and cats from birth tos six months. 3rd Edition, Saunders, Philadelphia.

Houlton JEF ve McGlennon NJ (1992): Castration and physeal closure in the cat. Vet Rec, 131: 466-467.

https://www.mapsofworld.com/world-top-ten/countries-with-most-pet-cat-population.html (Erişim Tarihi: 28.04.2022).

Howard JG, Brown JL, Bush M ve Wildt DE (1990): Teratospermic and normospermic domestic cats: ejaculate traits, pituitary-gonadal hormones, and improvement of spermatozoa motility and morphology after swim up processing. J Androl, 11: 204-215.

Howard JG (1992): Feline semen analysis and artificial insemination. In: KirK-Bonagura, editor. Kirk's current veterinary therapy. XI Small animal practice. S. 929-938. WB Saunders, Philadelphia.

Howard JG, Donoghue AM, Johnston LA ve Wildt DE (1993): Zona pellucida filtration of structurally abnormal spermatozoa and reduced fertilization in teratospermic cats. Biol Reprod, 49: 131-139.

ICAM (International Companion Animal Management) Coalition (2007): Humane dog population management guidance. http://icam-coalition.org/ Erişim Tarihi: 28.04.2022.

Immegart HM ve Threlfall WR (2000): Evaluation of intratesticular injection of glycerol for nonsurgical sterilization of dogs, Am J Vet Res, 61 (5), 544-549.

Ives PJ, McArthur NH ve Sis RF (1975): Scanning electron microscopy of the penile spines of the domestic cat. Southwest Vet, 28: 53-59.

İleri İK, Ak K, Pabuçcuoğlu S ve Birler S (1998): Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama. Ders Notu No: 84, İ.Ü. Veteriner Fakültesi Masaüstü Yayımcılık, İstanbul.

Jana K, Samanta, PK ve Ghosh D (2005): Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for nonsurgical sterilization of male Black Bengal goats (Capra hircus): a dose-dependent study. Anim Reprod Sci, 86: 89-108.

Jana K ve Samanta PK (2007): Sterilization of male stray dogs with a single intratesticular injection of calcium chloride: a dose dependent study. Contraception, 75 (5): 390-400.

Jana K ve Samanta PK (2011): Clinical evaluation of non-surgical sterilization of male cats with single intra-testicular injection of calcium chloride. BMC Vet Res, (7): 39.

Jochle W ve Jochle M (1975): Reproductive and behavioral control in the male and female cat with progestins. Longterm field observations in individual animals. Theriogenology, 3: 179-185.

Johnson LM ve Gay VL (1981): Luteninizing hormone in the cat. I. Tonic secretion. Endocrinology, 109: 240-246.

Johnstone SD (1991): Question and answer on the effect of surgically neutering dogs and cats. J Am Vet Med Assoc, 198: 1206-1214.

Johnstone SD, Root MV ve Olson PNS (1994): Ovarian and testicular function in the domestic cat: Clinical management of spontaneous reproductive disease. Anim Reprod Sci, 42: 261-274.

Johnstone SD, Root Kustritz MV ve Olson PNS (2001): Canine and Feline Theriogenology, pp. 508-522, WB Saunders Co., Philadelphia.

Johnstone IP (1984): Electroejaculation in domestic cat. Aust Vet J, 61:155-158.

Johnstone IP, Bancroft BJ ve McFarlane JR (1984): Testosterone and androstenedione profiles in the blood of domestic tom-cats. Anim Reprod Sci, 7: 363-375.

Johnstone IP ve Bancroft BJ (1988): The effects of different anesthetics on blood steroid concentrations in domestic tom-cats. Aust Vet J, 65: 382-385.

Junaidi A, Williamson PE, Cummins JM, Martin GB, Blackberry MA ve Trigg TE (2003): Use of a new drug delivery formulation of the gonadotrophin-relrasing hormone analouge Deslorelin for reversible long-term contraception in male dogs. Reprod Fertil Dev, 15: 317-322.

Jung MJ, Moon YC ve Cho IH (2005): Induction of castration by immunization of male dogs with recombinant gonadotropin-releasing hormone (GnRH)-canine distemper virüs (CDV) T helper cell epitope p35. J Vet Sci, 6: 21-24.

Kennedy BPA, Cumming B ve Brown WY (2020): Global strategies for population management of domestic cats (Felis catus): A systematic review to inform best practice management for remote indigenous communities in Australia. Animals, 10 (4): 663.

Kongara K, Chambers JP, Johnson CB ve Dukkipati VS (2013): Effects of tramadol or morphine in dogs undergoing castration on intra-operative electroencephalogram responses and post-operative pain. New Zealand Vet J, 61, 349-353.

Kutzler M ve Wood A (2006): Non-surgical methods of contraception and sterilization. Theriogenology, 66: 514-525.

Kustritz M ve Root V (2010): Clinical Canine and Feline Reproduction. Wiley-Blackwell, Iowa, USA

Kwak BK ve Lee SH (2013): Intratesticular injection of hypertonic saline: Non-invasive alternative method for animal castration model. Dev Reprod, 17 (4): 435-440.

Lacoste D, Dubé D, Trudel C, Bélanger A ve Labrie F (1989): Normal gonadal functions and fertility after 23 months of treatment to prepubertal male and female dogs with the GnRH agonist (D-Trp-6, des-Gly-NH2-10) GnRH ethylamin. J Androl, 10:456-65.

Ladd A, Tsong YY, Walfield AM ve Thau R (1994): Development of an antifertility vaccine for pets based on active immunization against luteinizing hormone-releasing hormone. Biol Reprod, 51: 1076-1083.

Lees GE, Osborne CA ve Stevens JB (1979): Antibacterial properties of urine: studies of feline urine specific gravity, osmolality and pH. J Am Anim Hosp Assoc, 15: 135-141.

Leoci R, Aiudi G, Silvestre F, Lissner EA ve Lacalandra GM (2014a): A dose-finding, long-term study on the use of calcium chloride in saline solution as a method of non-surgical sterilization in dogs: evaluation of the most effective concentration with the lowest risk. Acta Vet Scand, 56, (1): 63.

Leoci R, Aiudi G, Silvestre F, Lissner EA ve Lacalandra GM (2014b): Alcohol diluent provides the optimal formulation for calcium chloride non-surgical sterilization in dogs. Acta Vet Scand, 56: 62.

Leoci R, Aiudi G, Cicirelli V, Brent L, Iaria C ve Lacalandra GM (2019): Effects of intratesticular vs intraepididymal calcium chloride sterilant on testicular morphology and fertility in dogs. Theriogenology, 127: 153-160.

Levy JK, Crawford PC, Appel LD ve Clifford EL (2008): Comparison of intratesticular injection of zinc gluconate versus surgical castration to sterilize male dogs. Am J Vet Res, 69, 140-143.

Levy JK (2010): Current contraceptive approaches for feral cats. Proceedings of the 4th International Symposium on Non-Surgical Methods of Pet Population Control; 2010 April 8–10; Dallas, TX, USA. Alliance for Contraception in Cats & dogs, http://www.accd.org/docs/defaultsource/ 4th-symosium/levy_cats_ppt.pdf?sfvrsn=2

Lie G (1955): Superfetation in cats, and some observations on the pubertal age of female cats. Nytt Mag Zool (Oslo), 3: 66-69.

Linde-Forsberg ve Axner E (2004): Mating and artificial insemination in domestic cat. İçinde: Manuel of Small Animal Reproduction and Neonatology. S.106, Fusion Design, Wareham, UK

Lunnen JE, Faulkner LC, Hopwood ML ve Pickett BW (1974): Immunization of dogs with bovine luteinizing hormone. Biol Reprod, 10: 453-460.

Massei G ve Miller LA (2013): Nonsurgical fertility control for managing free-roaming dog populations: A review of products and criteria for field applications. Theriogenology, 80: 829-838.

May C, Bennett D ve Downham DY (1991): Delayed physeal closure associated with castration in cats. J Small Anim Pract, 32: 326-328.

McEntee K (1990): Embryology of the reproductive organs. In McEntee K (ed): Reproductive pathology of Domestic Mammals, pp 1-7, Academic Press, San Diego.

McCallum H ve Hocking BA (2005): Reflecting on Ethical and Legal Issues in Wildlife Disease. Bioethics, 19: 4, 336-347.

Mitchison WA (1971): The carrier effect in the secondary response to hapten protein conjugate. Eur J Immunol, 1: 10-18.

Murakami M, Iwanaga S, Nishida T ve Aiba T (1984a): Phagocytosis of latex beads by the epithelial cells in the terminal region of the vas deferens of the cat: SEM and TEM study. Andrologia, 16: 548-553.

Murakami M, Nishida T, Iwanaga S ve Shiromoto M (1984b): Scanning and transmission electron microskopic evidence of epithelial phagocytosis of spermatozoa in the terminal region of the vas deferens of the cat. Experientia, 40: 958-960.

Moore A (2007): The Cat Behavior Answer Book. Ed: Lisa H. Haley, Storey Publishing.

Morgaz J, Navarrete R, Muñoz-Rascón P, Domínguez JM, Fernández-Sarmiento JA, Gómez-Villamandos RJ ve Granados MM (2013): Postoperative analgesic effects of dexketoprofen, buprenorphine and tramadol in dogs undergoing ovariohysterectomy. Res Vet Sci, 95, 278-282.

Naz RK ve Talwar GP (1981): Immunological sterilization of male dogs by BCG. Int J Androl, 4:111-128.

Naz RK, Gupta SK, Gupta JC, Vyas HK ve Talwar AGP (2005): Recent advances in contraceptive vaccine development. Hum Reprod, 20: 3271-3283.

Neumann F, Diallo FA, Hasan SH, Schenck B ve Traore I (1976): The influence of pharmaceutical compounds on male fertility. Andrologia, 8: 203-235.

Niva K, Oharea K, Hosoi Y ve Iritani A (1985): Early events of in-vitro fertilization of cat eggs by epididymal spermatozoa. J Reprod Fertil, 74:657-660.

Norsworthy GD (1975): Alternative surgical procedures for feline birth control: Tubal ligation, vasectomy. Feline Pract, 5: 24-27.

Oliveira ECS, Moura MR, Silva VA, Peixoto CA, Saraiva KLA, de Sá MJC, Douglas RH ve Marques AP Jr (2007): Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs. Theriogenology, 68: 137-145.

Oliveira ECS, Moura MRP, de Sá MJC, Silva VA Jr, Kastelic JP, Douglas RH, Marques AP Jr (2012): Permanent contraception of dogs induced with intratesticular injection of a zinc gluconate-based solution. Theriogenology, 77: 1056-1063.

Oliveira ECS, Fagundes AKF, Melo CCS, Nery LTB, Rêvoredo RG, Andrade TFG, Oliveira-Esquerre K, Kastelic JP ve Silva VA Jr (2013): Intratesticular injection of a zinc-based solution for contraception of domestic cats: a randomized clinical trial of efficacy and safety. Vet J, 197: 307-310.

Olson PN ve Johnston SD (1993): New developments in small animal population control. J Am Vet Med Assoc, 202: 904-909.

Paranzini CS, Sousa AK, Cardoso GS, Perencin FM, Trautwein LGC, Bracarense APFRL ve Martins MIM (2018): Effects of chemical castration using 20% CaCl2 with 0.5% DMSO in tomcats: Evaluation of inflammatory reaction by infrared thermography and effectiveness of treatment. Theriogenology, 106: 253-258.

Pineda MH, Reimers TJ, Faulkner LC, Hopwood ML, Seidel GE Jr (1977): Azoospermia in dogs induced by injection of sclerosing agents into the caudae of the epididymis. Am J Vet Res, 38: 831-838.

Pineda MH, Dooley MP ve Martin PA (1984): Long term study on the effects of electroejaculation o seminal characteristics of the domestic cat. Am J Vet Res, 45: 1038-1040.

Pineda MH ve Dooley MP (1984a): Effect of voltage and order of voltage application on seminal characteristics of electroejaculates of the domestic cat. Am J Vet Res, 45: 1520-1525.

Pineda MH ve Dooley MP (1984b): Surgical and chemical vasectomy in the cat. Am J Vet Res, 45: 291-300.

Platz CC ve Seager SW (1978): Semen collection by electroejaculation in the domestic cat. J Am Vet Med Assoc, 173: 1353-1355.

Prescott CW (1973): Reproduction patterns in the domestic cat. Aust Vet J, 49: 126-129.

Reighard J ve Jennings HS (1935): Anatomy of the Cat, 3rd ed. New York, Henry Holt and Company.

Rishniw M ve Bicalho R (2015): Factors affecting urine specific gravity in apparently healthy cats presenting to first opinion practice for routine evaluation. J Fel Med Surg, 17 (4): 329-337.

Roberts WW, Chan DY, Fried NM Wright EJ, Nicol T, Jarrett TW, Kavoussi LR ve Solomon SB (2002a): High intensity focused ultrasound ablation of the vas deferens in a canine model. J Urol, 167: 2613-2617.

Roberts WW, Wright EJ, Fried NM, Nicol T, Jarrett TW, Kavoussi LR ve Solomon SB (2002b): High intensity focused ultrasound ablation of the epididymis in a canine model: a potential alternative to vasectomy. J Endourol, 16: 621-625.

Root MV (1995): The effect of prepuberal and postpuberal gonadectomy on the general health and development of obesity in the male and female domestic cat. PdD Thesis, University of Minnesota.

Root MV ve Johnstone SD (1995): The effect of early spay-neuter in the development of feline obesity. Vet Forum, 12:38-43.

Root MV, Johnston SD, Johnston GR ve Olson PN (1996): The effect of prepuberal and postpuberal gonadectomy on penile extrusion and urethral diameter in the domestic cat. Vet Radiol Ultrasound, 37: 363-366.

Root WS ve Bard P (1947): The median of feline erection through sympathetic pathways with some remarks on sexual behavior after deafferentation of the genitalia. Am J Physol, 151: 80-90.

Rosenblatt JS ve Aronson LR (1958a): The decline of sexual behavior in male cats after castration with special reference to the role of prior sexual experience. Behaviour, 12: 285-338.

Rosenblatt JS ve Aronson LR (1958b): The influence of experiense on the behavorial effects of androgen in prepuberally castrated male cats. Anim Behav, 6: 171-182.

Saccini A (1952): Osservazioni sulla spermiogenesi del gatto e del cane. Nuova Vet, 28: 33-36.

Sabeur K, Ball BA, Nett TM, Ball HH ve Liu IKM (2003): Effect of GnRH conjugated to pokeweed antiviral protein on reproductive function in adult male dogs. Reproduction, 125: 801-806.

Samanta PK (1998): Chemosterilization of stray dogs, Indian J Anim Health, 37 (1), 61-62.

Sanchez B, Pizarro M, Garcia P ve Flores JM (1993): Postnatal development of seminiferous tubules in the cat. J Reprod Fertil Suppl, 47: 343-348.

Saxena BB, Clavio A, Singh M, Rathnam P, Bukharovich Y, Reimers Jr T, Saxena A ve Perkins S (2002): Modulation of ovarian function in female dogs immunized with bovine luteinizing hormone receptor. Reprod Domest Anim, 37: 9-17.

Saxena BB, Clavio A, Singh M, Rathnam P, Bukharovich EY, Reimers Jr TJ, Saxena A ve Perkins S (2003): Effect of immunization with bovine luteinizing hormone receptor on ovarian function in cats. Am J Vet Res, 64:292-298.

Scott MG ve Scott PP (1957): Post-natal development of the testis and epididymis in the cat. J Physiol, 136: 40-41.

Scott PP (1970): Cats. Ed. Hafez, ESE, İçinde: Reproduction and breeding technics for labratory animals, chapter 10, Lea and Febiger, Philadelphia.

Semans JH ve Langworthy OR (1938): Observations on the neurophysiology of sexual function in the male cat. J Urol, 40: 836-846.

Sekiguchi S (1960): On the nerve supply of the outher genitals in tom cat. Arch Histol Jpn, 18: 611-634.

Shafik A (1994): Prolactin injection, a new contraceptive method: experimental study. Contraception, 50: 191-199.

Shille VM, Munro C, Farmer SW, Papkoff H ve Stabenfeldt GH (1983): Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus. J. Reprod. Fertil, 69, 29-39.

Sirett NE, Hyland BI, Hubbard JI, Lapwood KR ve Elgar HJ (1986): Luteinizing hormone release in the anaesthetised cat following electrical stimulation of limbic structures. Neuroendocrinology, 42: 128-136.

Soto FR, Viana WG, Mucciolo GC, Hosomi FY, Vannucchi CI, Mazzei CP, Eyherabide AR, de Fátima Lúcio C, Dias RA ve de Azevedo SS (2009): Evaluation of efficacy and safety of zinc gluconate associated with dimethyl sulphoxide for sexually mature canine males chemical neutering. Reprod Domest Anim, 44 (6): 927-931.

Swalec KM ve Smeak DD (1989): Priapism after castration in a cat. J Am Vet Med Assoc, 195: 963-964.

Sojka NJ (1980): The male reproductive system. In: Morrow DA (ed): Current Therapy in Theriogenology, s. 844-845, WB Saunders, Philadelphia.

Sojka NJ (1986): Management of artificial breeding in cats. In: Morrow DA, editor. Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in large and small animals. 2nd ed. s. 805–808, WB Saunders, Philadelphia.

Starkey WF ve Leathem JH (1939): Action of estrone on sexual organs of immature male cats. Anat Rec, 75: 85-89.

Talwar GP, Naz RK, Das C ve Das RP (1979): A practical immunological approach to block spermatogenesis without loss of androgens. Proc Natl Acad Sci, 76: 5882-5885.

Talwar GP ve Naz RK (1981): Immunological control of male fertility. Arch Androl, 7: 177-185.

Tepsumethanon V, Wilde H ve Hemachudha T (2005): Intratesticular injection of a balanced zinc solution for permanent sterilization of dogs. J Med Assoc Thai, 88: 686-689.

Trautwein LGC, Souza AK, Bordo CS, Aguiar JB, Paranzini CS ve Martins MIM (2016): Volume and testicular weight correlation with sperm quality of domestic cats. VI. International Symposium on Animal Biology of Reproduction, November 6-9, 2016, Campos do Jordao, SP, Brazil.

Trigg TE, Wright PJ, Armour AF, Williamson PE, Junaidi A, Martin GB, Doyle AG ve Walsh J (2001): Use of a GnRH anologue implant to produce reversible long-term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs. J Reprod Fertil Suppl, 57: 255-261.

Trigg TE, Doyle AG, Walsh JD ve Swangchan-uthai T (2004): Advances in the use of the GnRH agonist deslorelin in control of reproduction. In: Proc 5th international symposium on canine and feline reproduction; p. 49-51 (abstract).

Tsutsui T, Murao I, Kawakami E, Ogasa A ve Stabenfeldt GH (1990): Androgen concentration in the blood and spermatogenic function of tom cats during the breeding season. Jpn J Vet Sci, 52: 801-806.

US FDA (United States Food and Drug Administration) (2003): Freedom of Information Summary. Neutersol Injectable Solution for dogs (zinc gluconate Neutralized by Arginine). New Animal Drug Application (NADA), pp. 141-217.

Vasseur PB, Levy J, Dowd E ve Eliot J (1988): Surgical wound infection rates in dogs and cats: data from a teaching hospital. Vet Surg, 17, 60-64.

Verstergen J (2000): Feline Reproduction In: SJ Ettinger, EC Feldman Eds Textbook of Veterinary Internal Medicine 5th edn. Saunders; pp. 1585-1598.

Vickery BH, McRae GI, Briones WV, Roberts BB, Worden AC, Schanbacher BD ve Falvo RE (1985a): Dose response studies on male reproductive parameters in dogs with nafarelin acetate, a potent LHRH agonist. J Androl, 6: 53-60.

Vickery BH, Burns J, Zaneveld LJ, Goodpasture JC ve Bergstrom K (1985b): Orally administered ketokonazole rapidly appears in seminal plasma and suppress sperm motility. Adv Contracept, 1:341-353.

Voith VL (1979): Effects of castration on mating behavior. Mod Vet Pract, 60: 1040-1041.

Voith VL (1980): Male reproductive behavior. In: Morrow DA (ed): Current Therapy In Theriogenology, Philadelphia, WB Saunders.

Wang M (2012): Neutersol: intratesticular injection induces sterility in dogs. In: Proceedings of the 1st ACC&D International Symposium on Non-Surgical Methods of Pet Population Control. http://www.acc-d.org/ACCD%20Symposia. Erişim Tarihi: 29.04.2022

Watson PF ve Glover TE (1993): Vaginal anatomy of the domestic cat (Felis catus) in relation to copulation and artificial insemination. J Repro Fertil Suppl, 47: 355-359.

Whalen RE (1963): Sexual behavior of cats. Behavior, 20: 321-342.

Wichmann U, Wichmann G ve Krause W (1984): Serum levels of testosterone precursors, testosterone and estradiol in 10 animal species. Exp Clin Endocrinol, 83: 283-290.

Wildt DE, Seager SWJ ve Bridges CH (1981): Sterilization of the male dog and cat by laparoscopic occlusion of the ductus deferens. Am J Vet Res, 42: 1888-1897.

Wright PJ, Stelmasiak T, Black D ve Sykes D (1979): Medroxyprogesterone acetate and reproductive processes in male dogs. Aust Vet J, 55: 437-438.

Yeates J (2013): Clinical choices. Animal Welfare in Veterinary Practice. Wiley- Blackwell, Ames, IA, USA, pp. 89-111.

Zambelli D, Baietti B, Prati F ve Belluzzi S (2004): The effect of ketamine and medetomidine on quality of domestic cat sperm after electroejaculation. In: EVSSAR IV European Congress on Reproduction in Companion, Exotic and Laboratory Animals, June 4-6, p. 311-312.

EKLER