

**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA**

Veterinarijos fakultetas

Ieva Kvedaraitė

**Kastruojamų katinų sėklidžių patanatominiai ir
spermatozoidų morfologiniai pakitimai**

**Pathological and morphological abnormalities of
spermatozoa from castrated male cats testicals**

Veterinarinės medicinos vientisųjų studijų
MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovas: dr. Neringa Sutkevičienė

Kaunas, 2020 m.

**DARBAS ATLIKTAS STAMBIŲJŲ GYVŪNŲ KLINIKOJE
PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ**

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas „Kastruojamų katinų sėklidžių patanatominiai ir spermatozoidų morfologiniai pakitimai“:

1. Yra atliktas mano pačios;
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje;
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą naudotos literatūros sąrašą.

(data)

(autorius vardas, pavardė)

(parašas)

PATVIRTINIMAS APIE DARBO LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ

Patvirtinu, kad darbo lietuvių kalba taisyklinga.

(data)

(redaktooriaus vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADA DĖL DARBO GYNIMO

Patvirtinu, kad darbas atitinka reikalavimus ir yra parengtas gynimui

(data)

(darbo vadovo vardas, pavardė)

(parašas)

**MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS STAMBIŲJŲ GYVŪNŲ
KLINIKOJE**

(aprobacijos data)

(klinikos) vedėjo (-os) vardas, pavardė)

(parašas)

Magistro baigiamojo darbo recenzentas

(vardas, pavardė)

(parašas)

Magistro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data)

(gynimo komisijos sekretorės (-iaus) vardas, pavardė)

(parašas)

TURINYS

SANTRAUKA	5
SUMMARY	6
ĮVADAS.....	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	9
1.1. Spermatozoidų morfologija.....	9
1.2. Spermatogenezė	10
1.3. Veiksniai, darantys įtaką spermos kokybei	10
1.4. Lytinė branda.....	11
1.5. Sėklidės	11
1.6. Spermos vertinimas	11
1.7. Spermatozoidų pakitimai ir jų įtaka vaisingumui	13
1.8. Anestezijos įtaka spermos kokybei	14
1.9. Spermos surinkimas	14
1.10. Kriptorchizmas.....	16
1.11. Pastovaus spermos išskyrimo įtaka spermos kokybei.....	16
1.12. „Dag“ defektas	16
1.13. Testosteronas.....	17
1.14. Selenas, cinkas	17
2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI	18
3. REZULTATAI	21
3.1 Katinų amžiaus įtaka.....	21
3.2 Metų laiko įtaka	25
3.3 Katinų veislės įtaka.....	28
3.4 Katinų sėklidžių svorio įtaka	31
3.5 Spermatozoidų morfologijos įtaka judrumui	34
4. REZULTATŲ APTARIMAS	35

IŠVADOS.....	37
LITERATŪROS SARAŠAS.....	38

KASTRUOJAMŲ KATINŲ SĖKLIDŽIŲ PATANATOMINIAI IR SPERMATOZOIDŲ MORFOLOGINIAI PAKITIMAI

Ieva Kvedaraitė

Magistro baigiamasis darbas

SANTRAUKA

Magistro darbo tikslas – nustatyti kastruotų katinų sėklidžių svorį ir įvertinti spermos kokybę.

2018–2019 metais iš trijų x Kauno veterinarijos klinikų buvo renkamos iškastruotų katinų sėklidės. Surinktos iš viso 62 katinų (lot. *Felis catus*) sėklidės. Katinai suskirstyti į 4 amžiaus grupes. Įvertintas sėklidžių svoris, atlikti spermatozoidų gyvybingumo, judrumo, bei morfologiniai spermatozoidų tyrimai.

Atlikti tyrimai ir išanalizuoti duomenys parodė, kad didžiausias spermatozoidų judrumas ($75,25 \pm 9,55$ proc.) ir didžiausias sėklidžių svorio vidurkis ($4,61 \pm 0,82$ g.) fiksuojamas 12 – 23 mėn. amžiaus katinų grupėje. Nustatyta, kad katinų sėklidžių svorio vidurkis teigiamai koreliuoja su katinų amžiumi ($r = 0,51$; $p < 0,05$). 8 – 11 mėn. amžiaus katinų grupėje nustatytas didžiausias spermatozoidų gyvybingumo vidurkis ($80,75 \pm 9,13$ proc.). 7 mėn. amžiaus katinų grupėje didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis ($34,01 \pm 18,47$ proc.).

Pavasarij kastruotų katinų spermos rodikliai buvo geriausi atsižvelgiant į spermatozoidų judrumą, ($77,75 \pm 7,84$ proc.) ir gyvybingumą ($84,21 \pm 2,85$ proc.). Judančių spermatozoidų procentas patikimai, neigiamai koreliavo su metų laiku ($r = -0,68$; $p < 0,05$). Rudenį fiksuojamas didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis ($54,54 \pm 13,28$ proc.). Morfologiškai pakitusių spermatozoidų procentas teigiamai patikimai koreliavo su metų laiku ($r = 0,55$; $p < 0,05$).

Suskirsčius katinus į veislinius ir neveislinius nustatyta, kad neveislinių katinų grupėje užfiksuotas didesnis spermatozoidų judrumo ($70,72 \pm 12,04$ proc.), gyvybingumo ($78,48 \pm 7,96$ proc.), sėklidžių svorio ($3,66 \pm 0,99$ g.) ir mažesnis morfologiškai nepakitusių spermatozoidų skaičiaus vidurkis ($28,71 \pm 18,1$ proc.).

Atliktame tyrime iš 62-iejų tirtų katinų, 5 katinai turėjo bent po vieną į mašnelę nenusileidusią sėklidę, tai sudaro 8,07 proc. tirtų katinų. Nenusileidusiose sėklidėse spermatozoidų nebuvo rasta.

Įvertinus katinų spermatozoidų uodegėlių pakitimus, pastebėta, kad jų kiekis neigiamai koreliuoja su spermatozoidų judrumu ($r = -0,81$; $p < 0,05$).

Raktažodžiai: katinų spermatozoidų judrumas, gyvybingumas, spermatozoidų galvučių, uodegėlių morfologija.

PATHOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL ABNORMALITIES OF SPERMATOZOA FROM CASTRATED CATS TESTICALS

Ieva Kvedaraitė

Master's Thesis

SUMMARY

The purpose of this study is to determine the testicular weight and sperm quality of castrated male cats.

In 2018-2019, the testicles of castrated cats were collected from three x Kaunas veterinary clinics. A total of 62 cats (lat. *Felis catus*) testicles were collected. Cats were divided into 4 age groups. Sperm viability, motility and morphological sperm tests were performed.

Investigations and analyzed data showed that the highest sperm motility (75.25 ± 9.55 %) and highest testicular weight (4.61 ± 0.82 g.) were recorded in the group of 12-23 months old cats. The average testicular weight of cats was found to be positively correlated with the age of cats ($r = 0.51$; $P < 0.05$). The highest mean sperm viability (80.75 ± 9.13 %) was found in the 8-11 month old cat group. The highest mean spermatozoa head and tail lesion (34.01 ± 18.47 %) was observed in 7 month old cats. In spring, the sperm rates of castrated cats were the best in terms of sperm motility, (77.75 ± 7.84 %) and viability (84.21 ± 2.85 %). The percentage of moving spermatozoa was negatively correlated with the time of year ($r = -0.68$; $P < 0.05$). The highest mean spermatozoa head and tail lesions were recorded in the autumn (54.54 ± 13.28 %). The percentage of morphologically altered spermatozoa was positively correlated with the time of year ($r = 0.55$; $P < 0.05$). The division of cats into pedigree and non-pedigree cats showed higher sperm motility (70.72 ± 12.04 %), viability (78.48 ± 7.96 %), testicular weight (3.66 ± 0.99 g.) and lower mean morphologically unchanged sperm count (28.71 ± 18.1 %) in non-pedigree cat group.

Morphological lesions of spermatozoa tail were found to be strongly correlated with sperm motility ($r = -0.81$; $P < 0.05$).

Key words: feline sperm motility, viability, morphology of sperm heads, tails.

IVADAS

Katės yra vieni iš populiariausių ir labiausiai žinomų augintinių. Jos daugybę amžių yra auginamos ūkiuose dėl graužikų medžiojimo. Nors jos meilios, tačiau jų elgesys – vis dar neįminta mįslė. Jos gali būti draugiškos ir mylinčios šeimnininką, bet tuo pačiu nepriklausomos (1).

Ilgai manyta, kad kačių prijaukinimas buvo pradėtas Egipte. Čia katės buvo garbinamos maždaug 3100 m. pr. Kr. Tačiau seniausios afrikinės laukinės katės (lot. *F. lybica*) skeletas buvo rastas Kipre, tame pačiame kape, kuriame buvo palaidotas žmogus. Šio kapo amžius siekia apie 9500 m. (2). Lietuvoje seniausiai aptiktam katės skeletui yra šiek tiek daugiau nei 600 metų, jis 1390 metais aptiktas Kernavėje (3).

Fiksuojama apie 100 skirtingų veislių naminių kačių, tačiau tik pusę jų patvirtina Tarptautinė kačių federacija (FIFe) (5).

Nors šimtus milijonų kačių žmonės prižiūri kaip augintinius ir kompanionus, kačių reprodukcijos tyrimai aiškiai atsilieka nuo kitiems laboratoriniams ir naminiams gyvūnams taikomų metodų. Naminių katinų reprodukcinės funkcijos tyrimai yra labai svarbūs, nes ši rūšis yra naudinga atliekant biomedicininis tyrimus ir gali tapti vertingu gyvūno modeliu tiriant kačių reprodukcijos fiziologiją (6) – kadangi naminis katinas dažnai naudojamas kaip laukinių katinų šeimos (lot. *Felidae*) pavyzdys, išsamesnės žinios apie naminių kačių dauginimąsi gali būti naudingos ir pritaikomos kitoms katinų šeimos rūšims (7).

Populiarėjant dirbtiniam kačių sėklinimui svarbu užtikrinti tinkamą spermos kokybę. Spermos mėginys gaunamas naudojant dirbtinę makštį, transrektalinę elektrostimuliaciją ar kateterizuojant šlaplę. Gaišus katinui, jo spermą galima išgauti supjausčius antsėklidį. Norint užtikrinti rezultatyvų apvaisinimą spermos mėginiai yra tiriami šviesiniu mikroskopu, įvertinant spermatozoidų judrumą, gyvybingumą, galvučių ir uodegėlių pakitimus (8).

Darbo tikslas: nustatyti kastruotų katinų sėklidžių svorį ir įvertinti spermos kokybę.

Darbo uždaviniai:

1. Įvertinti katinų amžiaus įtaką spermatozoidų judrumui, gyvybingumui, spermatozoidų morfologiniams pakitimams ir sėklidžių svoriui.
2. Įvertinti metų laiko įtaką spermatozoidų judrumui, gyvybingumui bei spermos morfologiniams pakitimams.
3. Palyginti veislinių ir neveislinių/mišrūnų katinų spermatozoidų judrumą, gyvybingumą ir morfologinius pakitimus.

4. Palyginti sėklidžių svorį, kuriose buvo spermatozoidų su sėklidėmis, kuriose nebuvo spermatozoidų.
5. Apskaičiuoti koreliacijas tarp spermatozoidų judrumo ir morfologijos.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Spermatozoidų morfologija

Spermatozoidai – tai diferencijuotos ląstelės, turinčios stiprią uodegėlę, bet turinčios nedaug organelių, tokių kaip ribosomos, endoplazminis tinklas, ar Goldžio aparatas, kurie yra nereikalingi įvykus apvaisinimui. Tačiau spermatozoiduose yra daug mitochondrijų, strategiškai esančių ten, kur jos gali efektyviausiai suteikti energijos uodegėlės judėjimui (9).

Spermatozoidą paprastai sudaro du morfologiškai ir funkciškai atskiri regionai, uždengti viena plazmos membrana: uodegėlė, kuri padeda spermatozoidui nukeliauti prie kiaušialąstės ir padeda jam prasiskverbti per kiaušialąstės apvaskalą, ir galvutė, kurioje yra sutirštėjęs haploidinis branduolys. Branduolyje esanti DNR yra labai kompaktiškai supakuota, kad jos tūris transportavimui būtų kuo mažesnis, o transkripcijos procesas sustojęs. Daugelio spermatozoidų chromosomos atsiriboja nuo somatinių ląstelių histonų ir yra supakuotos į paprastus, teigiamai įkrautus baltymus, vadinamus protaminais (10).

Spermatozoido branduolys užima didžiąją galvutės dalį, o jo forma lemia spermatozoido galvutės formą. Spermatozoido branduolio priekiniame gale susidaro į dangtelį panaši struktūra, vadinama akrosoma. Ji uždengia apie 2/3 spermatozoido priekinės dalies (11).

Daugelio gyvūnų spermatozoido galvutėje, prie priekinio branduolio galo, yra specializuota sekretinė pūslelė, vadinama akrosomine pūslele. Šioje pūslelėje yra hidroliziniai fermentai, kurie gali padėti spermatozoidams prasiskverbti pro kiaušialąstės išorinį apvaskalą (10).

Akrosomą riboja akrosominė membrana ir joje yra akrosominių polisacharidų, tokių kaip galaktozė, manozė, fruktozė ir heksozaminai. Joje yra du svarbiausi fermentai, tokie kaip hialuronidazė ir akrozinai, veikiantys spermatozoido patekimo į kiaušialąstę metu (11).

Kai spermatozoidas kontaktuoja su kiaušialąste, akrosomos turinys išsiskiria egzocitozės būdu, vadinamosios akrosomos reakcijos metu. Kai kuriuose spermatozoiduose šios reakcijos metu išsiskiria specifiniai baltymai, kurie padeda spermatozoidą tvirtai surišti su kiaušialąstės apvaskalu (10).

Spermatozoido kaklo dalis yra svarbi ne tik dėl to, kad jungia galvutę su uodegėle, bet ji iš esmės yra atsakinga už spermatozoido judėjimą. Kaklo srities, kuri yra trumpa ir įdubusi tarp galvos pagrindo ir vidurinės dalies pradžios, negalima aiškiai atskirti. Kranialinė kaklo srities dalis yra greta bazinės plokštelės. Jo kaudalinė dalis yra suformuota sujungus išilgines briaunuotas kolonas su devyniomis išorinėmis tankiosiomis skaidulomis. Subrendusio katino spermatozoidų kaklo sritis yra maždaug 1,0 μm ilgio ir 0,8 μm skersmens (12).

Spermatozoido judrioji uodegėlė yra ilgasis žiuželis, kurio centrinė aksonema prasideda iš bazinio kūno, esančio tiesiai už branduolio (10).

Pagal aksonemos dangalus skiriamos 3 uodegėlės dalys: vidurinė, pagrindinė ir galinė. Vidurinę uodegėlės dalį supa mitochondrijų sluoksnis. Mitochondrijų būna daugiau kaip 50 vienetų. Po apvaisinimo spermatozoido mitochondrijos suardomos, todėl jos paveldimos tik iš patelės. Aksonemą dar gaubia 9 išilginių pluoštų skaidulos, vadinamos išorinėmis tankiosiomis skaidulomis. Pagrindinė uodegėlės dalis yra ilgiausia (10).

Uodegėlės centrinė dalis, sudaryta iš 2 centrinių tubulino mikrovamzdelių ir 9 juos ratu supančių tubulino mikrovamzdelių dubletų. Dubletus tarpusavyje sutvirtina baltymas neksinas. Prie išorinių dubletų tvirtinasi baltymas dineinas, kuris, skaidydamas ATP, judina mikrovamzdelius vienas kito atžvilgiu, taip sukeldamas aksonemos, o kartu ir uodegėlės išlinkimą, bei sąlygodamas ląstelės judėjimą (10).

1.2. Spermatozogenėzė

Spermatozogenėzė yra ciklinis, koordinuotas procesas, kai spermatozogenija diferencijuojama į subrendusius spermatozoidus. Šis itin organizuotas ir sudėtingas procesas apima įvairias ląstelių formavimosi stadijas, vadinamas etapais, kurie gali būti klasifikuojami pagal spermatozoido branduolio formos pokyčius, mejozės skilimą ir spermatozoidų išdėstymą spermatozogeniniame epitelyje. Be to, šiuos etapus galima nustatyti remiantis akrosomų raidos ir spermatozoidų vystymosi morfologija (13).

Ciklo etapai yra apibūdinami pagal spermatozoidų branduolių formą ir vietą, mejozės skilimo buvimą ir spermatozoidų išdėstymą epitelyje. Šis procesas apima aštuonias stadijas (13).

Įvykių seka, vykstanti nuo tam tikros ląstelės asociacijos išnykimo iki jos pakartotinio pasirodymo tam tikrame spermatozogeniniame epitelyje, sudaro spermatozogeninio epitelyje ciklą (14). Laiko intervalas, reikalingas vienai pilnai ląstelių asociacijų grupei atsirasti viename kanalėlyje, vadinamas sėklinio epitelyje ciklo trukme (15). Vingiutozo sėklinio vamzdelio (lot. *tubuli seminiferi contorti*) epitelyje ciklo trukmė yra 10,4 dienos, o bendra katinų spermatozogenėzės ciklo trukmė 4,5 karto ilgesnė – 46,8 dienos. Kasdien vienas gramas katinų sėklidės produkuoja apie 16 mln. spermatozoidų (4).

1.3. Veiksniai, darantys įtaką spermatozoidų kokybei

Sezonas. Axnér E. ir Linde Forsberg C. atliktų tyrimų duomenimis normalių, be pakitimų spermatozoidų koncentracija yra didesnė vasario – liepos mėnesiais, nei rugpjūčio – sausio mėnesiais. Daugiausia normalių spermatozoidų buvo subrandinama reprodukcijos sezono metu. Tai rodo, kad fotoperiodas gali turėti įtakos katinų vaisingumui (6).

Kilmė. Axnér E. ir Linde Forsberg C. surinkę spermatozoidus iš laukinių katinų ir iš naminių katinų, tiek grynaveislių, tiek paprastų mišrių katinų, nustatė, kad kilmingų katinų spermatozoidų mažesnis procentas normalių spermatozoidų, nei nekilmingų katinų (6). Veislė gali turėti įtakos spermatozoidų morfologijai. Veislinės katės dažnai būna kilusios iš veisiamų giminingų kačių arba jos gali būti atrenkamos atsižvelgiant į kitus kriterijus nei vaisingumas (6).

Amžius. Axnér E. ir Linde Forsberg C. tyrimo metu pastebėjo, kad proksimaliniai lašeliai turi reikšmingą koreliaciją su amžiumi ir tendenciją smarkiai skirtis tarp amžiaus grupių. Kai katėms ± 5 metai buvo didesnis proksimalinių lašelių procentas (6).

1.4. Lytinė branda

Maždaug 6 mėnesių katinams galima pastebėti klasikinius hormonų lemiamo elgesio pokyčius, pvz., katinas tampa agresyvesnis, kovoja su kitais katinais. Kiti brandos požymiai yra šlapimo purškimas, naktinis vokalizavimas ir nuolatiniai bandymai pabėgti iš namų ir klajoti lauke (17).

1.5. Sėklidės

Sėklidės yra katinų lytinė liauka gaminanti ne tik spermatozoidus, bet ir lytinius hormonus (testosteroną). Sėklidę sudaro daugybė smulkiai išsivingiavusių sėklinių kanalėlių (lot. *tubuli seminiferi contorti*) įsiliejančių į sėklidės antsėklidį (lot. *epididymis*), kuris savo ruožtu pereina į sėklinį lataką (lot. *ductus deferens*), o šis į sėklos išmetamąjį lataką (lot. *ductus ejaculatorius*), atsiveriantį į šlapimkanalį. Tarpus tarp kanalėlių užpildo intersticinis audinys. Sėklinius kanalėlius iš vidaus iškloja spermatogeninis epitelis, kuriame vystosi spermatozoidai. Intersticiniame audinyje gaminamas vyriškasis lytinis hormonas testosteronas. Spermatozoidai visiškai subręsta ir tampa judrūs, kai iš sėklinių kanalėlių patenka į antsėklidį. Lytinio akto metu spermatozoidai iš sėklidės antsėklidžio sėkliniu lataką nunešami į sėklos išmetamąjį lataką ir šlapimkanaliu į išorę (16).

Testosterono išsiskyrimą kontroliuoja priekinės hipofizės dalies išskiriamas liuteinizuojantis hormonas. Tuo tarpu spermos gamybą kontroliuoja tiek folikulus stimuliuojantis hormonas, tiek lytinių liaukų išskiriamas testosteronas (16).

Gonadų somatinis indeksas yra priemonė matuoti gyvūnų lytinę brandą atsižvelgiant į sėklidžių vystymąsi. Šis indeksas apskaičiuojamas bendrą sėklidžių svorį padalinus iš katino kūno svorio ir padauginus gautą rezultatą iš 100. Mokslinės literatūros duomenimis katinų gonadų somatinis indeksas yra labai mažas palyginus su daugeliu tirtų žinduolių rūšių, jis siekia tik 0,08 proc. (16).

Leidigo ir Sertoli ląstelių skaičius viename grame sėklidės katinams yra apie 30 milijonų. Leidigo ląstelių branduolys katinams yra sferinis (4).

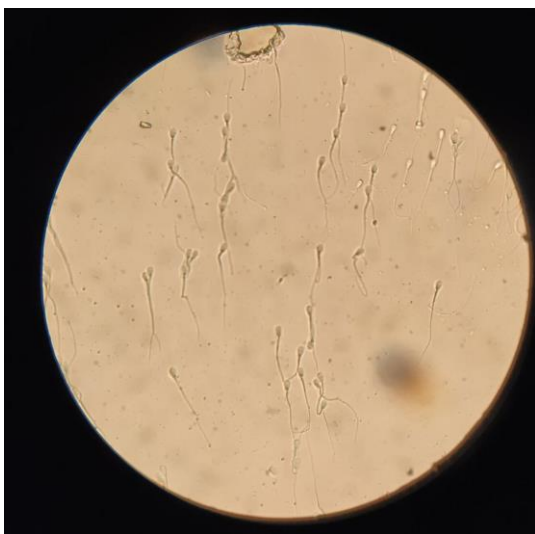
Teratosperminių katinų Sertoli ląstelių santykis yra didesnis, nei normosperminių katinų. DNR srauto citometrija patvirtino didesnes bendras spermatogenines ir mejozines transformacijas teratosperminiuose katinuose (18).

Teratosperminiai katinai, palyginus su normospermiškais katinais, turi daugiau spermatozoidų audinio, daugiau gemalo ląstelių vienai Sertoli ląstelių. (19).

1.6. Spermos vertinimas

Pagrindiniai parametrai, kurie vertinami katinų spermoje yra spermatozoidų koncentracija, judrumas, gyvybingumas ir morfologija (1 pav.). Spermatozoidų koncentracija paprastai nustatoma

naudojant skaičiavimo kamerą. Spermatozoidų gyvybingumo ir galvučių morfologijai įvertinti naudojami dažai (20).



1 pav. Spermatozoidų uodegėlių vertinimas (nuotrauka autorės)

Spermatozoidų anomalijos skirstomos į pirmines ar antrines. Pirminės anomalijos dažniausiai atsiranda dėl sutrikusios spermatogenezės, todėl yra reikšmingesnės. Antriniai nukrypimai gali atsirasti praeinant pro antsėklidį arba surenkant spermą (21).

Sunkios spermatozoidų anomalijos apima pakitusi spermatozoido galvutės ar akrosomos dydį ar formą, proksimalinius ar distalinius protoplazminius lašelius ir susisukusias uodegėles. Mažiau sunkias anomalijas sudaro atitrūkusios nuo uodegėlių, morfologiškai normaliai atrodančios galvutės ir sulenktos uodegos (22).

Įprasto spermos mėginio pirminių ir antrinių anomalijų turėtų būti atitinkamai mažiau nei 10 proc. ir 20 proc. Bendras spermatozoidų anomalijų skaičius turėtų būti mažesnis nei 60 proc. Spermos mėginio, kuriame gausu spermatozoidų ir prostatos frakcijų citologija turėtų būti atskirai įvertinta nucentrifugavus. Normalios spermos frakcijos citologijoje yra spermatozoidai. Leukocitų, bakterijų ir raudonųjų kraujo kūnelių spermoje neturėtų būti. Padidėjęs neutrofilų, makrofagų ar bakterijų skaičius rodo užkrėtimą ir (arba) infekciją. Jei neutrofiluose yra degeneracinių pokyčių, reikia ieškoti uždegimo (20).

Apatinių šlapimo takų uždegimas turėtų būti apsvarstytas, kai spermoje yra uždegimą rodančių kraujo ląstelių. Jei nenormalus prostatos epitelis yra spermos mėginyje, būtina toliau vertinti prostatos liauką (20).

Azoosperminio (spermoje nėra spermatozoidų) katino spermos mėginyje būtina išmatuoti ALP (šarminę fosfatazę) ar karnitino aktyvumą, norint nustatyti, ar azoospermija atsirado dėl sėklidžių nepakankamumo ar latakų užsikimšimo. Mažas ALP (šarminės fosfatazės) ar karnitino aktyvumas rodo latakų užsikimšimą, tuo tarpu normalus ALP arba karnitino aktyvumas rodo sėklidžių nepakankamumą. Vertinant spermą šviesiniu mikroskopu, dėl subjektyvumo galimos paklaidos.

Neseniai buvo aprašyta keletas metodų, susijusių su gebėjimu pasiekti, surišti, prasiskverbti ir apvaisinti oocitą, kurie gali padėti tiksliau nustatyti spermatozoidų apvaisinimo pajėgumą. Įprastinis šviesinės mikroskopijos spermos vertinimas keičiamas fluorescencinio dažymo metodais, kompiuterinėmis spermos analizės sistemomis ir skysčio citometrija (20).

Teigiama, kad katinų vaisingumui įvertinti paprastai užtenka vieno ejakulianto, tačiau gali būti mažesnis judrumas ir didesnis nenormalių spermatozoidų kiekio procentas, todėl rekomenduojama, kad vaisingumui įvertinti reikėtų surinkti bent du ejakuliantus (6).

Po surinkimo, spermos mėginio kokybė nustatoma įvertinant pagrindinius spermos parametrus, t. y. spermatozoidų judrumą, morfologiją ir membranų vientisumą. Koncentracija gali būti matuojama naudojant skaičiavimo kamerą (Bürker arba Thoma), judrumas vertinamas naudojant subjektyvų judančių ir nejudančių spermatozoidų procentinį įvertinimą ant iš anksto šildomo mikroskopo staliuko, o morfologija ir membranų vientisumas yra vertinami prieš tai mėginį nudažius (23).

Neseniai aprašyti keli nauji katinų spermatozoidų įvertinimo būdai, tokie kaip kompiuterinė spermos analizė ir fluorescuojantys dažikliai, kurie leidžia išsamiau įvertinti spermatozoidus (24). Tačiau viena iš svarbiausių spermatozoidų gyvybingumo sumažėjimo priežasčių yra labai mažas ejakulianto kiekis, kuris riboja spermos ląstelių skaičių (25).

1.7. Spermatozoidų pakitimai ir jų įtaka vaisingumui

Katino spermoje randama įvairių spermatozoidų defektų, skirstant į galvučių ir uodegelių anomalijas (35). Iki šiol mechanizmai, kurie sukelia katinų teratospermiją, dar nėra žinomi. Nepaisant to, išlieka galimybė, kad aplinkos veiksniai (pvz., stresas, netinkama aplinka, dieta ar kt.) gali būti svarbūs reguliuojant struktūriškai normalių spermatozoidų skaičių (36).

Nustatyta, nors katinai turi ir nedidelį morfologiškai normalių spermatozoidų procentą, jie vistiek gali apvaisinti pateles (6). Vaisingumui įtakos gali turėti ne tik didelis morfologiškai pakitusių spermatozoidų procentas, bet ir bendras normalių ir judrių spermatozoidų skaičius. Spermos gamyba ir spermos morfologija paprastai yra susijusios, nes abi atspindi sėklidžių funkciją (16). Skirtingos spermatozoidų anomalijos yra nevienodai reikšmingos apvaisinimui (6).

Morfologiškai nepakitę teratosperminių patinų spermatozoidai turi specifinę disfunkciją, kuri neleidžia įvykti normaliai spermatozoido ir kiaušialąsčių sąveikai. Sumažėjęs spermatozoidų sugebėjimas prasiskverbti ir apvaisinti kiaušialąstes gali kilti akrosomos lygyje (37). Registruojami tokie spermatozoidų uodegelių pažeidimai: proksimaliniai ir distaliniai lašeliai, spermatozoidų galvutės be uodegelių, akrosomų defektai, vidurinės dalies pakitimai, paprastai ir po galva susisukusios bei dvigubai sulinkusios uodegėlės (6).

Distaliniai lašeliai laikomi nedideliu nukrypimu, nes katinai, kurių spermoje daug spermatozoidų su šiais lašeliais, vistiek išlieka vaisingi. Mokslinės literatūros duomenimis, katinas, kurio spermoje aptikta 74,5 proc. distalinių lašelių, apvaisino katę (6).

Proksimaliniai lašeliai priešingai – daro didelę įtaką spermatozoido apvaisinimo galimybėms, nes buvo įrodyta, kad nesubrendę spermatozoidai, turintys šį defektą, neprisijungia prie oocitų (6). Nenormalių spermos uodegėlių procentas ejakuliate dažnai mažėja, kai pakartotiniai spermos mėginiai imami per trumpą laiko tarpą (6).

Nors spermatozoidų uodegėlių pakitimai gali neigiamai paveikti vaisingumą, bet jos ne toks rimtas defektas, kaip, pavyzdžiui, nenormalios spermos galvutės. (6). Registruojamos tokios spermatozoidų galvučių patologijos: kriaušės formos, siauru pagrindu, nenormaliais kontūrais, neišsivysčiusios, pakitusios galvutės be uodegėlių, siauros, su dydžio pakitimais ir spermatozoidai su paracentrinu vidurinėsios dalies prisitvirtinimu. Laisvų galvučių kiekio padidėjimas gali atsirasti kaip trumpalaikis pakitimas, pavyzdžiui esant ligai ar skausmui. Gali būti, kad didelis atskirtų galvučių procentas yra tik laikinas sutrikimas ir todėl tai neturi didelės įtakos bendram gyvūno vaisingumui (6).

Spermatozoidų DNR vertinimas nėra įtrauktas į įprastą spermos vertinimą, bet dažnai pasikartojantis DNR skilimas yra svarbus parametras vertinant spermos kokybę ir naudingas indeksas vertinant vaisingumą (24).

1.8. Anestezijos įtaka spermos kokybei

Spermos paėmimui gyvūnas seduojamas, todėl būtina žinoti anestetikų, naudojamų gyvūnų sedacijai, poveikį. Neseniai nustatyta, kad inhaliaciniai anestetikai daro įtaką žmonių reprodukcijai ir genotoksiškumui. Išgarinto anestetiko poveikis spermos mėginiam parodė, kad izofluranas laikinai padidina akivaizdų spermatozoidų judrumą ir gyvybingumą, o sevofluranas nedaro įtakos spermos judrumui ir gyvybingumui tomis pačiomis koncentracijomis. Nors katinams naudojama daugybė anestezijos protokolų, ketamino hidrochloridas yra vienas iš labiausiai paplitusių atskirai arba kartu su kitais vaistais naudojamų medikamentų. Ketamino farmakokinetikos tyrimai parodė, kad vaistas pasišalina iš plazmos/serumo greitai ir jo pusinės eliminacijos laikas yra nuo 40 iki 60 min. Jo naudojimas katinams išprovokavo kortizolio koncentracijos serume padidėjimą. Kiti anestezijos protokolai, kai naudojami inhaliaciniai anestetikai, tokie kaip sevofluranas ar izofluranas, gyvūnui yra saugūs (26).

1.9. Spermos surinkimas

Yra aprašyti įvairūs kačių spermos surinkimo būdai: naudojant dirbtinę makštį, elektroejakuliacijos būdu, kateterizuojant šlaplę po sedacijos medetominu ir spermos paėmimas iš antsėklidžio (23).

Spermos surinkimas naudojamas ne tik dirbtiniam apvaisinimui, bet ir diagnostiniais tikslais. Surinkimas su dirbtine makštimi ir elektroejakuliacijos būdu – dažniausiai naudojami metodai, kurie leidžia surinkti kokybiškiausią mėginį (27).

Dirbtinė makštis. Ištreniruotas katinas užgula katę ir įsikanda jai į kaklą, kol į dirbtinę makštį įterpiamas penis spermai surinkti. Prie nedidelės dirbtinės makšties prijungiama 2 ml. talpos guminiu galu pipetė ir mažas vamzdelis, kuris dedamas į vandens buteliuką 37 °C temperatūros. Katinai nuo lytinio brendimo pradžios yra treniruojami tinkamai atlikti šią procedūrą (23).

Elektroejakuliacija. Transrektalinė elektrostimuliacija yra metodas, naudojamas spermos rinkimui (28). Katinams anestezija atliekama naudojant medetomidiną (80–100 µg/kg i.m.) ir ketaminą (5 mg/kg i.m.). Pašalinus išmatas, zondas su 3 elektrodais į tiesiąją žarną įkišamas nuo 6 iki 8 cm. Vėliau taikoma elektrinių stimulų serija. Taikant šį metodą, spermatozoidai gali būti renkami be jokių ankstesnių treniruočių (23).

Be to, ši procedūra gali būti taikoma kiekvienam patinui, kuris yra saugiai anestezuojamas. Šis spermos paėmimo būdas kelia etinių abejonių, todėl yra uždraustas kai kuriose šalyse. Be to, reikalinga įranga yra brangi, ir daugelis kačių savininkų bei veisėjų atsisako šio metodo (29).

Atliktų tyrimų duomenimis, spermos surinkimas elektrostimuliacijos būdu reikšmingų histologinių ir endoskopinių pažeidimų tiesiosios žarnos gleivinei nesukėlė. Todėl elektrostimuliacija gali būti laikoma saugia kačių spermos surinkimo technika (28).

Šlaplės kateterizacija. Ši neseniai sukurta metodika reikalauja, kad katinas būtų anestezuotas naudojant medetomidiną (100–150 µg/kg), kuris stimuliuoja α2-adrenerginius receptorus ir leidžia atpalaiduoti nedidelius labai koncentruotos spermos kiekius iš antsėklidžio uodegos šlaplėje (30).

Vėliau sperma surenkama naudojant šlapimo kateterį (kateteris, 1,0 mm x 13,0 cm), jo galas nupjaunamas, kad būtų trumpesnis, įterpiamas maždaug 9 cm į šlaplę, nebijant pasiekti šlapimo pūslės. Vėliau kateteris pašalinamas iš šlaplės ir paimamas spermos mėginys. Iškart po surinkimo spermos mėginys su skiedikliu įpilamas į pašildytą mėgintuvėlį. Šiuo metu šis metodas yra pats praktiškiausias ir mažiausiai invazinis būdas atlikti spermos surinkimą kasdienėje praktikoje (23).

Šis metodas yra netrauminis, galima atlikti daugelį kartų, nereikia specialios įrangos ar treniruotų katinų (22).

Antsėklidžio sperma. Kastracijos metu sėklidės ir antsėklidis surenkami ir dedami į Petri lėkštelę. Antsėklidis yra atskiriamas nuo sėklidės, pakartotinai įpjaunamas skalpeliu, ir 10 minučių leidžiama išsisklaidyti lėkštelėje (31).

Terpė su spermatozoidais yra surenkama ir išgryninama centrifuguojant tankio gradiento būdu. Šią procedūrą gana lengva atlikti ir ji paprastai atliekama laboratorijose, skirtose vitro apvaisinimo bandymams (32).

Šis metodas gali būti naudojamas genetiškai vertingoms katėms, kurios netikėtai gaišo (31).

1.10. Kriptorchizmas

Anatomiškai normali katinų sėklidžių lokalizacija yra mašnelėje po gimimo. Kriptorchizmo atvejų katėms pasitaiko retai apie (1,3–3,8 proc.). Dažniausiai kriptorchizmas diagnozuojamas Ragdoll veislės katinams (>18 proc.) (33).

Dažniausiai pasitaiko vienpusis kriptorchizmas (78–90 proc.), tačiau apie 10 proc. atvejų sudaro abipusis kriptorchizmas. 50 proc. vienpusio kriptorchizmo atvejų būna kirkšniniai. 34 proc. pilviniai ir 16 proc. būna tarp kirkšninio žiedo (33).

Tiriant pilvinių kriptorchimą turinčių katinų sėklides histologiškai juose nerandama nei vieno spermatozoido. Aukštesnė nei normali sėklidės temperatūra stabdo spermatozoidų formavimąsi. Tačiau jei sėklidė yra kirkšnyje, arba kirkšnies kanale, dažniausiai spermatogenezė nesutrunka. Šios sėklidės produkuoja testosteroną ir skatina tipinius patino požymius: storą odą kaklo ir pečių srityje, platų veidą, lytinį potraukį, agresiją, teritorijos žymėjimą ir kt. (33)

1.11. Pastovaus spermos išskyrimo įtaka spermos kokybei

Mokslininkų Zambelli ir Cunto tyrimų duomenimis dėl kasdienio spermos išskyrimo nuo 4 dienos sumažėjo spermos kiekis ir spermatozoidų skaičius. Vėliau spermatozoidų skaičius ir spermos kiekis išsilygino ir išliko pastovus. Spermatozoidų judrumui, gyvybingumui, morfologiniams pakitimams kasdienis spermos išskyrimas įtakos neturėjo, tik išaugo nesubrendusių spermatozoidų skaičius (27).

1.12. „Dag“ defektas

Didelė spermatozoidų koncentracija su uodegėlių defektais naminių katinų spermoje žinoma kaip „Dag“ defektas. Tai yra spermos uodegos defektas, pasireiškiantis daugybe aksonemų pluoštų lūžių ir mitochondrijų apvalkalo sutrikimais. Šis defektas buvo pirmiausia aprašytas Džersio buliams. Vėliau buvo pranešta apie spermos anomalijas arklių, ožkų, šunų ir net katinų spermoje. Pasak autorių "Dag" tipo defektas gali sukelti nevaisingumą, kai koncentracija viršija 50 proc. (35).

Mikroskopuojant pastebimos stipriai susisukusios uodegėlės, sudarytos iš kelių aksonemų apsuptų bendra membrana (38). Vidurinėje spermatozoido dalyje fiksuojamos netolygiai pasiskirsčiusios mitochondrijos, aksonemos skaidulų lūžiai. Nenormalūs pakitimai mitochondrijų apvalkale gali būti aptikti ir spermatozoiduose, paimtuose iš sėklidžių ar antsėklidžio (35).

Ankstesnis tyrimas parodė, kad teratosperminio katino padidėjęs spermos kiekis, daugiausia dėl sumažėjusios sutrikusių spermatogeninių ląstelių apoptozės (35).

Per pastaruosius kelerius metus buvo pasiūlytos galimų „Dag“ arba „Dag tipo“ defektų atsiradimo priežastys, įskaitant išorinio tankio pluošto silpnumą dėl cinko pertekliaus, priešlaikiniai hidrolizės fermentai iš distalinės lašelio arba, greičiausiai, malformacija mitochondrijų apvalkale vėlyvosios spermatogenezės metu (35).

1.13. Testosteronas

Grisolia ir kitų autorių atliktų tyrimų duomenimis testosterono koncentracija normosperminėms katėms 115,6–240,3 ng/dl ir katėms turinčioms „Dag defektą“ testosterono kiekis yra normos ribose ((178,0 ± 77,9 ng/dl) $p < 0,05$) (39).

Žema testosterono koncentracija paprastai matoma teratosperminiame katinė. Paprasčiausias būdas patikrinti testorono gamybą katinams, tai atkreipti dėmesį į ant varpos esančias spenelines ataugas, nes būtent testosteronas skatina jų augimą. Spenelinės ataugos atrofuoja po 6 sav. po katinų kastracijos (34).

Ramybės būsenoje (kuomet nėra lytinių dirgiklių) katinams testosterono kiekis būna $< 3,0$ ng/ml. (33).

1.14. Selenas, cinkas

Norint įvertinti cinko ir seleno kiekius spermos plazmoje, sėklinė plazma yra atskiriama nuo spermos ląstelių, centrifuguojant du kartus ir laikoma -80 °C temperatūroje. Villaverde, Fioratti, Ramos ir kitų autorių atliktų tyrimų duomenimis katinai, kurie turi „Dag tipo“ defektą, turi mažesnį seleno kiekį spermos plazmoje. Seleno turintis baltymas yra pagrindinis mitochondrijų kapsulės polipeptidas, standus struktūrinis kompleksas, kuris brendimo metu antsėklidyje stabilizuojasi disulfido ryšiais ir organizuoja mitochondrijų apvalkalą aplink žiuželį (35).

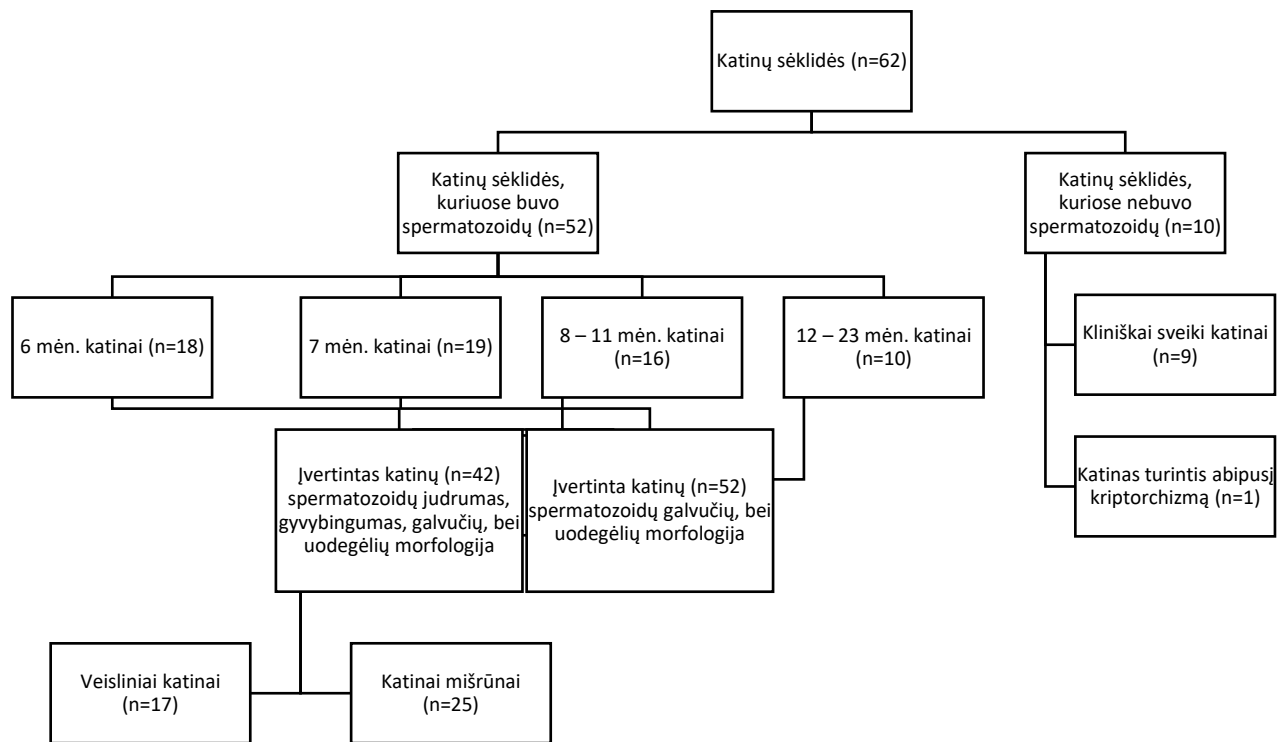
Taigi, seleno trūkumas katinams gali lemti spermatozoidų judėjimo sumažėjimą arba praradimą, taip pat spermatozoidų vidurinės dalies anomalijų padidėjimą. Įrodyta, kad fosfolipidinės hidroperoksido glutationo peroksidazės veikimas atlieka dvejopą vaidmenį spermatozoidams, tiek apsaugant juos nuo lipidų peroksidacijos, tiek formuojant mitochondrijų kapsules (35).

Nanodalelių naudojimas pagal jų antioksidacines savybes ypač vertingas spermos kokybei ir patinų vaisingumui. Spermos šaldymas padidina spermatozoidų oksidacinį stresą, dėl kurio žymiai sumažėja jų apvaisinimo galimybės. Neseniai buvo išbandytas cerio oksido (CeO_2) nanodalelės, kurios sugeba kaupti deguonį ir veikia kaip reaktyviųjų deguonies rūšių naikintojai. Spermos papildymas CeO_2 pagerino judrumo ir gyvybingumo parametrus jau po 48 val. bei padidino spermatozoidų judėjimo greitį. Tai buvo siejama su plazmos membranų ir spermatozoidų DNR vientisumo apsauga. Šis teigiamas poveikis spermos išsaugojimui vėsinant gali būti labai naudingas didinant produktyvumą. Nanoselenas taip pat buvo naudojamas keliuose tyrimuose kaip reaktyvaus deguonies naikintojas siekiant apsaugoti nuo oksidacinio pažeidimo spermatozoidus. Nanoseleno pridėjimas prie spermos išsaugo spermatozoidų kokybę, atsižvelgiant į spermatozoidų judrumą, DNR vientisumą (40).

Nanocinkas skatina spermatozoidų mitochondrijų aktyvumą, spermatozoidų membranų funkcionalumą priklausomai nuo dozės, nedarant jokio neigiamo poveikio judrumo parametrui (40).

2. TYRIMO MEDŽIAGOS IR METODAI

Tyrimo atlikimo eiga. 2018–2019 metais iš trijų x Kauno veterinarijos klinikų buvo renkamos iškastruotų katinų sėklidės. Atlikta laikantis gyvūnų globos, laikymo, naudojimo bei veterinarinių reikalavimų. Surinktos iš viso 62 katinų (lot. *Felis catus*) sėklidės. Katinai suskirstyti į 4 amžiaus grupes.



2 pav. Bandymų atlikimo schema

Iš karto po chirurginės kastracijos sėklidės pasveriamos (g) naudojant 200 g./0,01 g. tikslumo svarstyklės. Vėliau pjaustant sėklides makroskopiškai įvertinama sėklidžių spalva, forma.

Spermatozoidai buvo gauti rankiniu būdu pjaustant kiekvienos sėklidės antsėklidžio uodegą (lot. *cauda epididymis*). Pjūviai buvo daromi kas 2 mm. Tada antspaudo būdu priglaudžiamas šiltas objektinis stiklelis.

Mikroskopu Leica DM1000 įvertinamas spermatozoidų gyvybingumas, judrumas, morfologiniai uodegėlių, galvučių pakitimai. Spermatozoidų galvučių patologijos ir spermatozoidų su pataloginėmis uodegėlėmis kiekis vertinamas atskirai.

Subjektyvus spermatozoidų judrumo nustatymas. Spermatozoidų judrumas vertinamas mikroskopu Leica DM1000, ant objekcinio stikliuko su spermatozoidais dedamas šiltas dengiamasis stikliukas ir vertinamas spermatozoidų judrumas 100x padidiniu. Judrumas vertinamas pagal 3 matymo laukų judančių spermatozoidų kiekį.

Spermatozoidų gyvybingumo įvertinimas. Spermatozoidų gyvybingumui įvertinti naudoti eozino-nigrozino dažai. Dažas eozinas prasiskverbia pro pažeistas (sutrūkusias ar plyšusias) spermatozoidų membranas ir spermatozoidas nusidažo rausvai. Spermatozoidai su sveikomis (nepralaidžiomis, nepažeistomis) membranomis išlieka nenusidažę, balti tamsiame nigrozino dažų fone. Prieš dažymą tirpalas pašildomas iki 37–38 °C. Ant pašildyto objekcinio stiklelio su spermos mėginiu dedame mikropipete pamatuotą 10 µl kiekį eozino nigrozino dažų. Dažus ir spermą atsargiai išmaišome, padarome tepinėlį ir išdžioviname ore. Mikroskopuojame šviesiniu mikroskopu, naudojant 1000 kartų padidinimą su imersiniu aliejumi. Stebint mikroskopu matomi baltos (gyvi) ir rausvos ar raudonos spalvos (negyvi) spermatozoidai tamsiame nigrozino dažų fone. Buvo skaičiuojama 200 spermatozoidų, skirstant į gyvus ir negyvus. Apskaičiuojamas gyvų spermatozoidų procentas mėginyje – spermatozoidų gyvybingumas.

Morfologinis spermatozoidų uodegėlių vertinimas. Šiam tyrimui katinų spermos antspaudas buvo skiedžiama buferiniu formalino tirpalu, užlašinus lašą ant objekcinio stikliuko ir uždengiamas dengiamuoju stikleliu, paliekamas kelioms minutėms, kad spermatozoidai nusėstų ant dugno. Mikroskopuojama fazių kontrastiniu mikroskopu Leica DM1000 400 kartų padidiniu ir suskaičiuojama 200 spermatozoidų. Tada užpildoma spermograma. Registruojami tokie spermatozoidų uodegėlių pažeidimai: proksimaliniai ir distaliniai lašeliai, spermatozoidų galvutės be uodegėlių, akrosomų defektai, vidurinės dalies pakitimai, paprastai ir po galva susisukusios bei dvigubai sulinkusios uodegėlės. Apskaičiuojamas kiekvieno uodegėlių pakitimo procentas. Apskaičiuojamas bendras uodegėlių patologijų procentas.

Morfologinis spermatozoidų galvučių įvertinimas. Norint įvertinti spermatozoidų galvučių patologijas spermatozoidai buvo dažomi metileno-mėlynojo dažais. Mikroskopuojama mikroskopu Leica DM1000 naudojant 1000 kartų padidinimą su imersija. Spermatozoidų morfologinių pažeidimų nustatymui vertinama 500 spermatozoidų iš įvairių tepinėlio vietų. Registruojamos tokios spermatozoidų galvučių patologijos: kriaušės formos, siauru pagrindu, nenormaliais kontūrais, neišsivysčiusios, pakitusios galvutės be uodegėlių, siauros, su dydžio pakitimais ir spermatozoidai su paracentrinu vidurinėsios dalies prisitvirtinimu. Įvertinus 500 spermatozoidų būklę apskaičiuojamas bendras galvučių patologijų procentas.

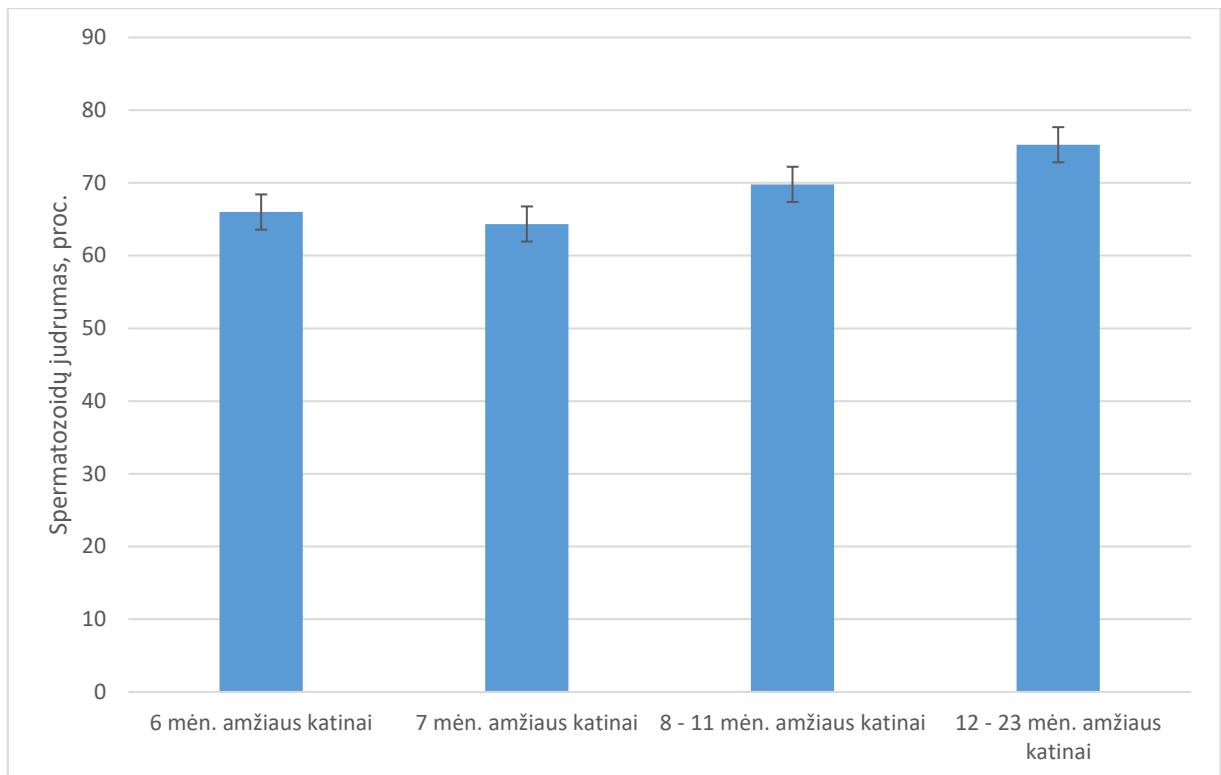
Statistiniai skaičiavimai. Gauti duomenys buvo apdoroti „Microsoft Excel“ (Microsoft Office Excell, 2016) programa. Analizuojant duomenis buvo apskaičiuotas aritmetinis vidurkis,

standartinis nuokrypis, koreliacija. Taip pat statistinė duomenų patikimumo analizė buvo atlikta SPSS programa. Duomenys buvo laikomi statistiškai patikimi, kai $p < 0,05$.

3. REZULTATAI

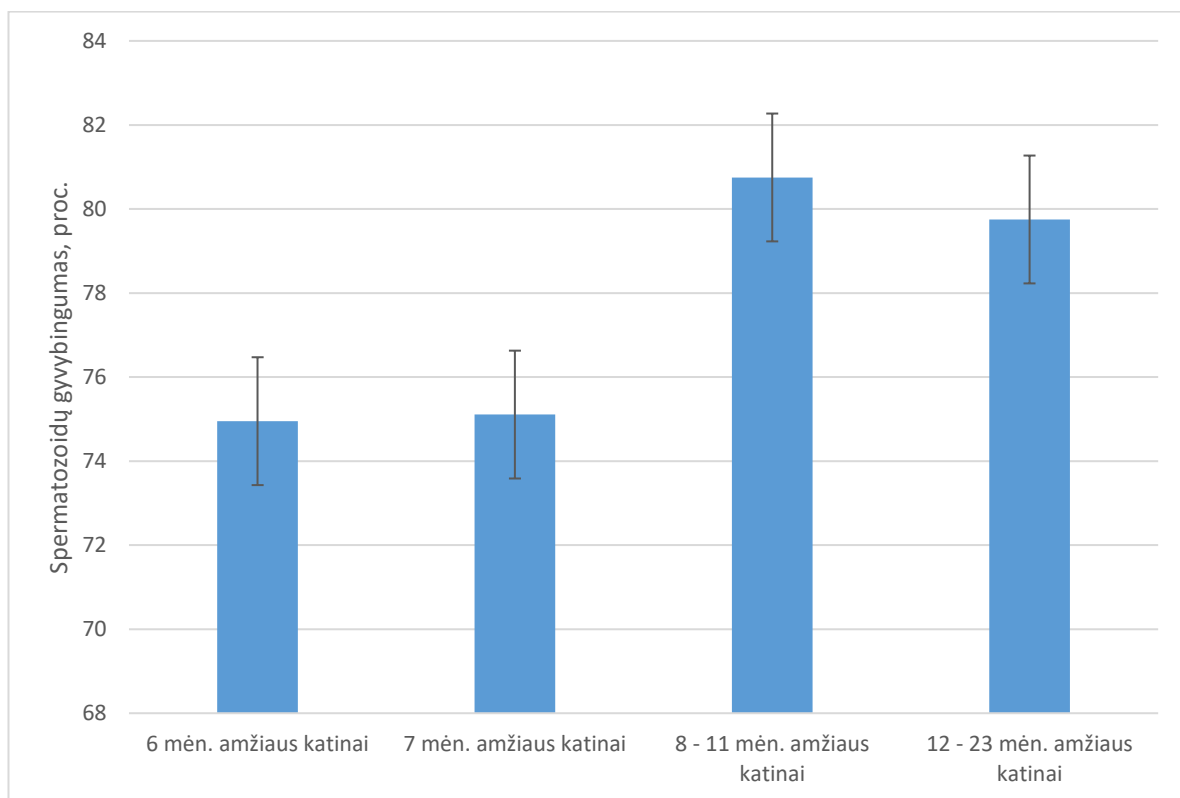
3.1 Katinų amžiaus įtaka

Katinų amžiaus įtaka spermatozoidų judrumui. Įvertinus spermatozoidų judrumo rodiklius šviesiniu mikroskopu nustatyta, kad katinų amžius ir spermatozoidų judrumas teigiamai, patikimai koreliuoja ($r = 0,24$; $p < 0,05$). Didžiausias spermatozoidų judrumo vidurkis fiksuojamas 12–23 mėn. amžiaus grupėje ($75,25 \pm 9,55$ proc.). 7 mėn. amžiaus katinų grupėje buvo nustatytas didžiausias ($35,65 \pm 18,78$ proc.) procentas nejudrių spermatozoidų (3 pav.).



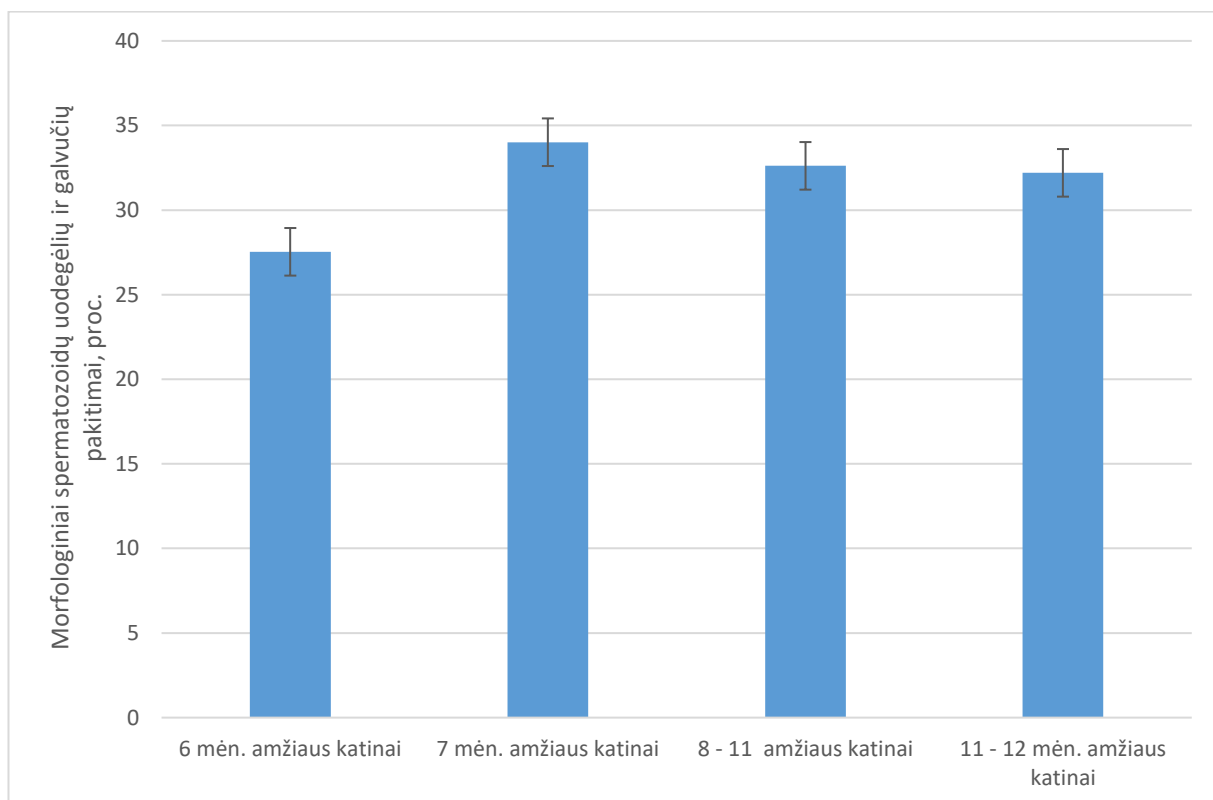
3 pav. Spermatozoidų judrumo rodiklių palyginimas tarp katinų amžiaus grupių ($p < 0,05$)

Katinų amžiaus įtaka spermatozoidų gyvybingumui. Nustatyta, kad didžiausias spermatozoidų gyvybingumo vidurkis fiksuojamas 8 – 11 mėn. amžiaus katinų grupėje ($80,75 \pm 9,13$ proc.). 6 mėn. amžiaus katinų grupėje buvo nustatytas didžiausias ($25,05 \pm 5,41$ proc.) procentas negyvybingų spermatozoidų (4 pav.). Nustatyta, kad katinų amžius teigiamai, patikimai koreliuoja su spermatozoidų gyvybingumu ($r = 0,2; p < 0,05$).



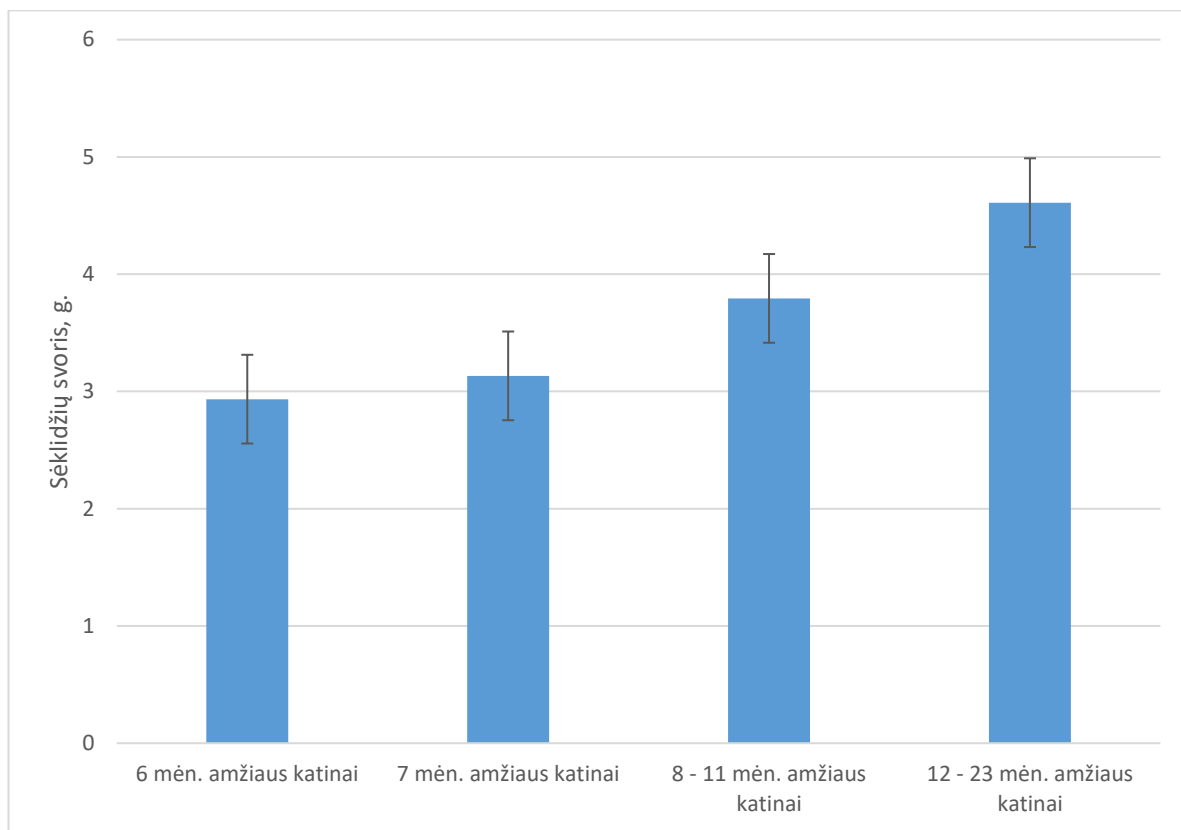
4 pav. Spermatozoidų gyvybingumo rodiklių palyginimas tarp katinų amžiaus grupių ($p < 0,05$)

Katinių amžiaus įtaka spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimams. Nustatyta teigiama, patikima koreliacija tarp katinų amžiaus ir spermatozoidų uodegėlių ir galvučių patologijų ($r = 0,01$; $p < 0,05$). Didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis fiksuojamas 7 mėn. amžiaus katinų grupėje ($34,01 \pm 18,47$ proc.). Didžiausias morfologiškai nepakitusių spermatozoidų skaičiaus vidurkis ($72,47 \pm 16,37$ proc.) nustatytas 6 mėn. amžiaus katinams (5 pav.).



5 pav. Spermatozoidų morfolominių uodegėlių ir galvučių pakitimų palyginimas tarp katinų amžiaus grupių ($p < 0,05$)

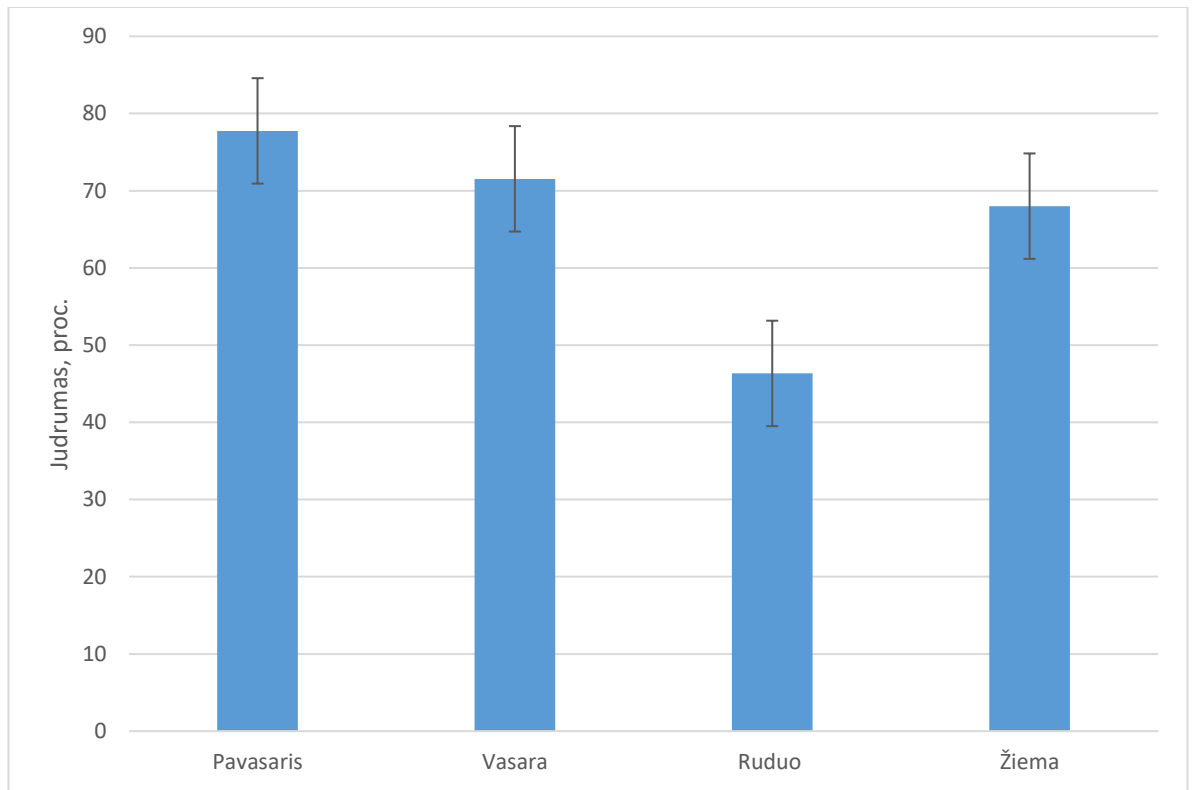
Katinių amžiaus įtaka sėklidžių svoriui. Nustatyta, kad didžiausias sėklidžių svorio vidurkis fiksuojamas 12–23 mėn. amžiaus katinų grupėje ($4,61 \pm 0,82$ g.). Mažiausias sėklidžių svorio vidurkis ($2,93 \pm 0,47$ g.) nustatytas 6 mėn. amžiaus katinams (6 pav.). Ištirtų visų katinų amžius teigiamai, patikimai koreliavo su katinų sėklidžių svoriu ($r = 0,51$; $p < 0,05$).



6 pav. Sėklidžių svorio (g.) vidurkio palyginimas tarp katinų amžiaus grupių ($p < 0,05$)

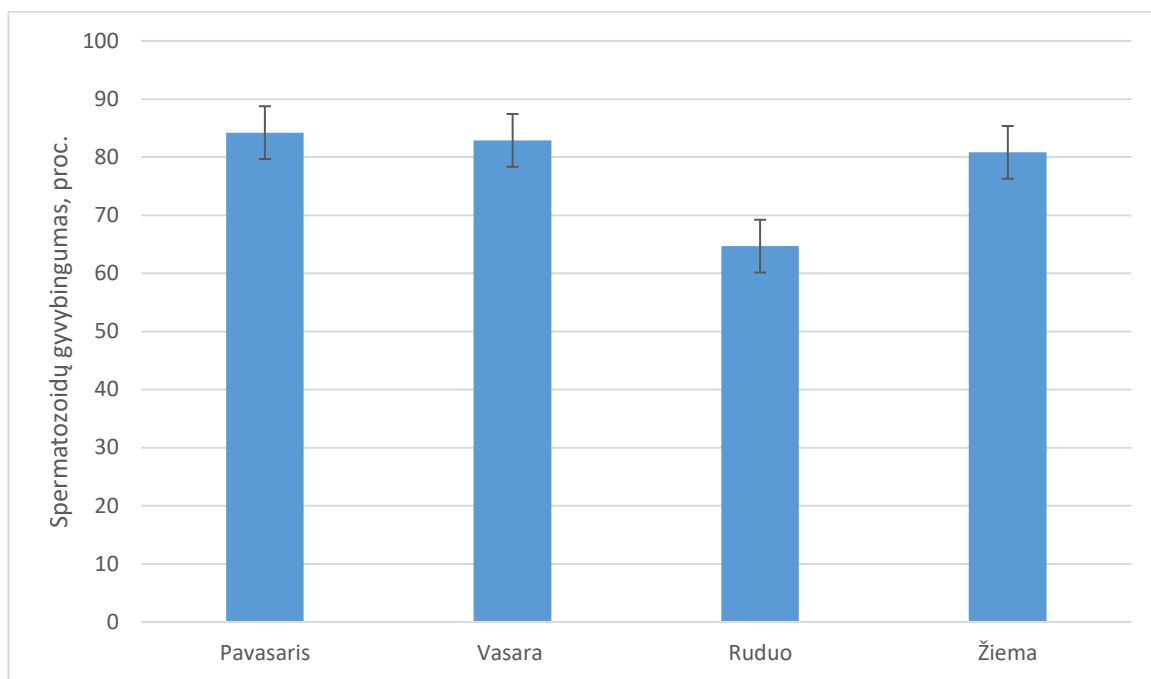
3.2 Metų laiko įtaka

Spermatozoidų judrumas skirtingu metų laiku. Palyginus spermatozoidų judrumą skirtingu metų laiku (7 pav.), buvo nustatyta, kad judriausi spermatozoidai pavasarį ($77,75 \pm 7,84$ proc.) balandžio mėnesį – 80 proc. Mažiausias spermatozoidų judrumas fiksuojamas rudenį ($53,33 \pm 13,28$ proc.) spalio mėnesį – 49,66 proc. Ištirtų visų katinų spermoje judančių spermatozoidų procentas neigiamai, patikimai koreliavo su metų laiku ($r = -0,68$; $p < 0,05$).



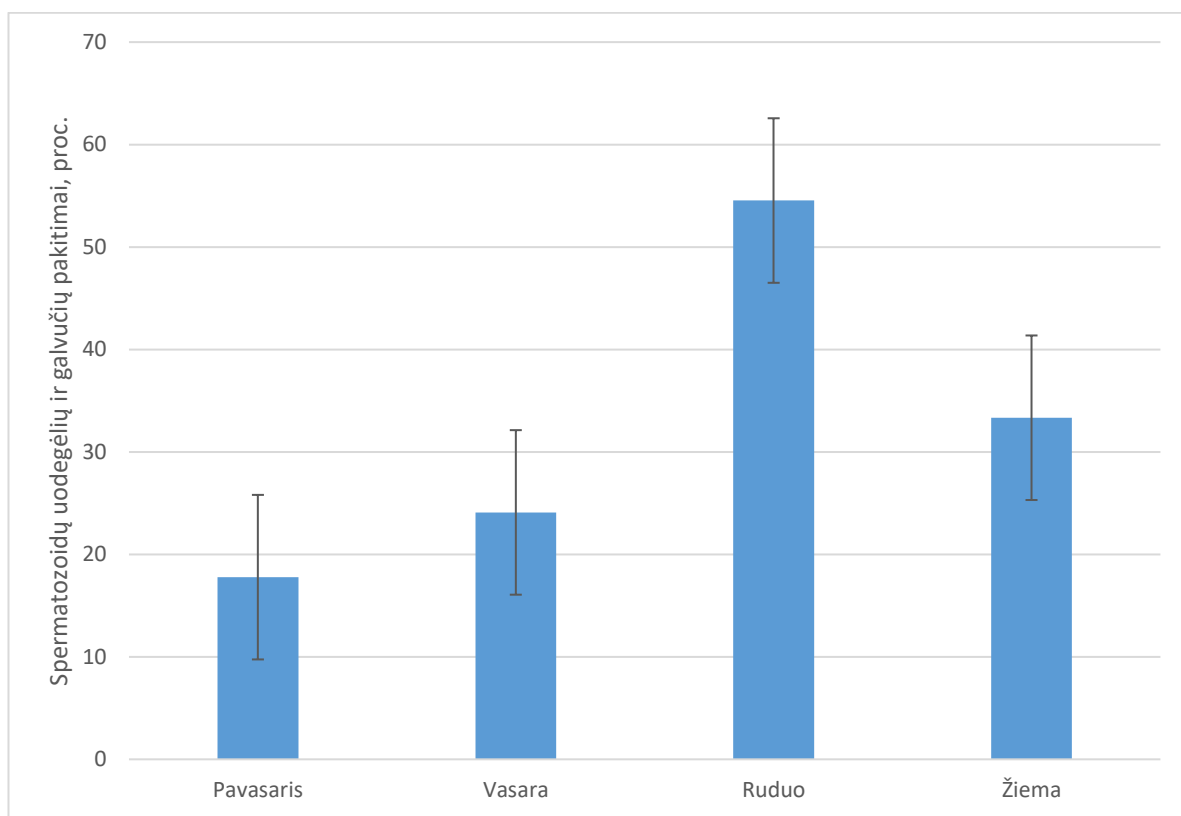
7 pav. Spermatozoidų judrumo rodiklių palyginimas tarp metų laikų ($p < 0,05$)

Metų laiko įtaka spermatozoidų gyvybingumui. Didžiausias spermatozoidų gyvybingumo vidurkis fiksuojamas pavasarį ($84,21 \pm 2,85$ proc.), kovo mėnesį (84,42 proc.). Mažiausias katinų spermatozoidų gyvybingumo vidurkis pastebėtas rudenį ($64,67 \pm 13,4$ proc.) spalio mėnesį (57,67 proc.) (8 pav.). Ištirtų visų katinų spermoje gyvybingų spermatozoidų procentas neigiamai, patikimai koreliavo su metų laiku ($r = -0,59$; $p < 0,05$).



8 pav. Spermatozoidų gyvybingumo rodiklių palyginimas skirtingu metų laiku ($p < 0,05$)

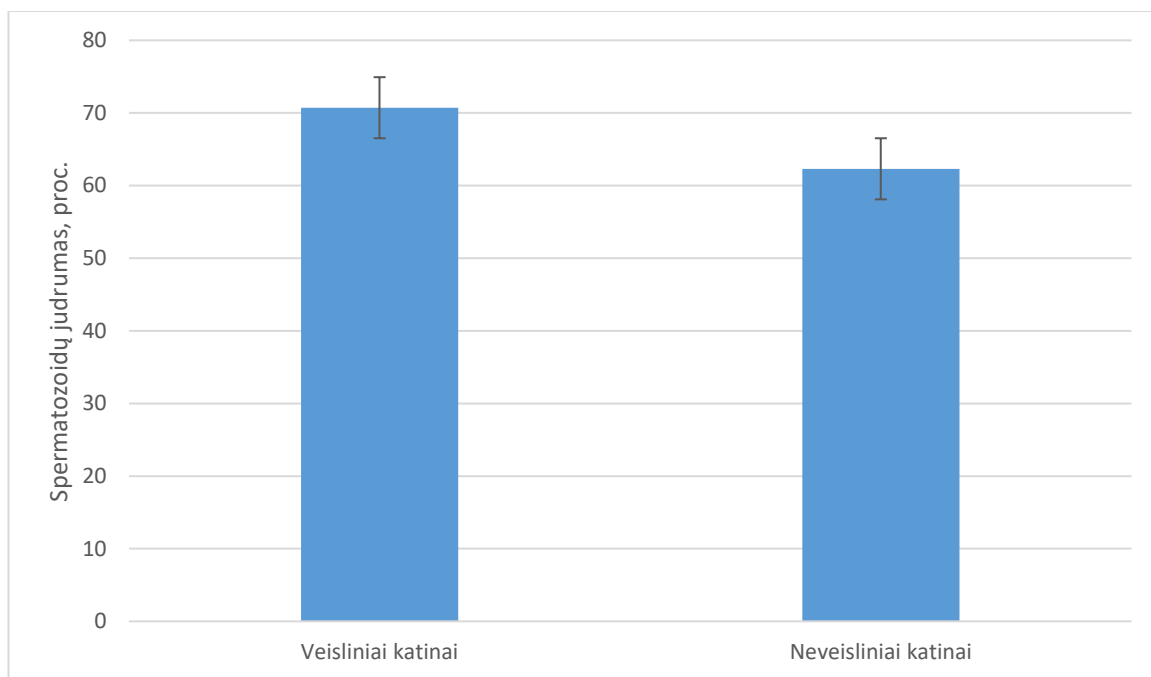
Metų laiko įtaka spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimams. Didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis fiksuojamas rudenį ($54,54 \pm 13,28$ proc.) spalio mėnesį – $57,94$ proc. Mažiausias morfologiškai nepakitusių spermatozoidų skaičiaus vidurkis ($28,71 \pm 18,1$ proc.) 8 proc. nustatytas pavasarį gegužės mėnesį – 16 (9 pav.). Ištirtų visų katinų spermoje morfologiškai pakitusių spermatozoidų procentas teigiamai, patikimai koreliavo su metų laiku ($r = 0,55$; $p < 0,05$).



9 pav. Spermatozoidų morfolominių pakitimų palyginimas skirtingu metų laiku ($p < 0,05$)

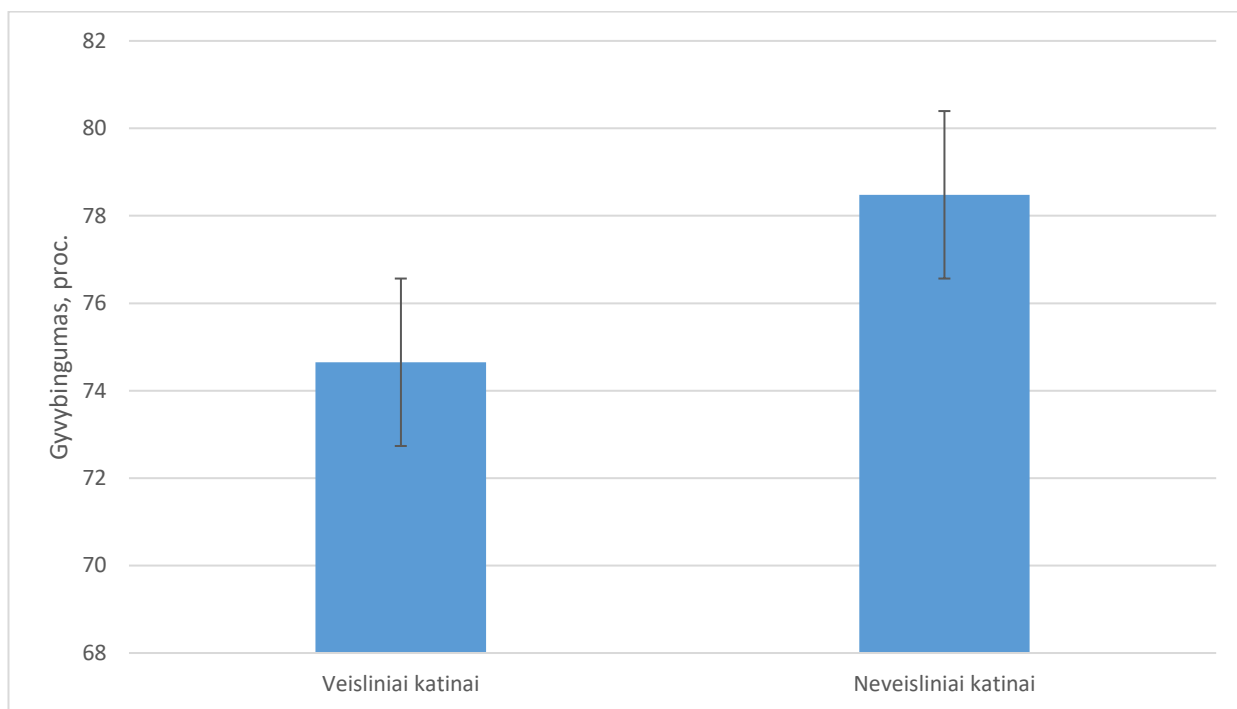
3.3 Katinų veislės įtaka

Katinų veislės įtaka spermatozoidų judrumui. Įvertinus spermatozoidų judrumo rodiklius šviesiniu mikroskopu nustatyta, kad spermatozoidų judrumo rodikliai tarp veislinių ir neveislinių katinų grupių statistiškai patikimai skyrėsi. Didesnis spermatozoidų judrumo vidurkis fiksuojamas neveislinių katinų grupėje ($70,72 \pm 12,04$ proc.). Veislinių katinų grupėje spermatozoidų judrumas buvo ($62,31 \pm 18,65$ proc., $p < 0,05$) (10 pav.).



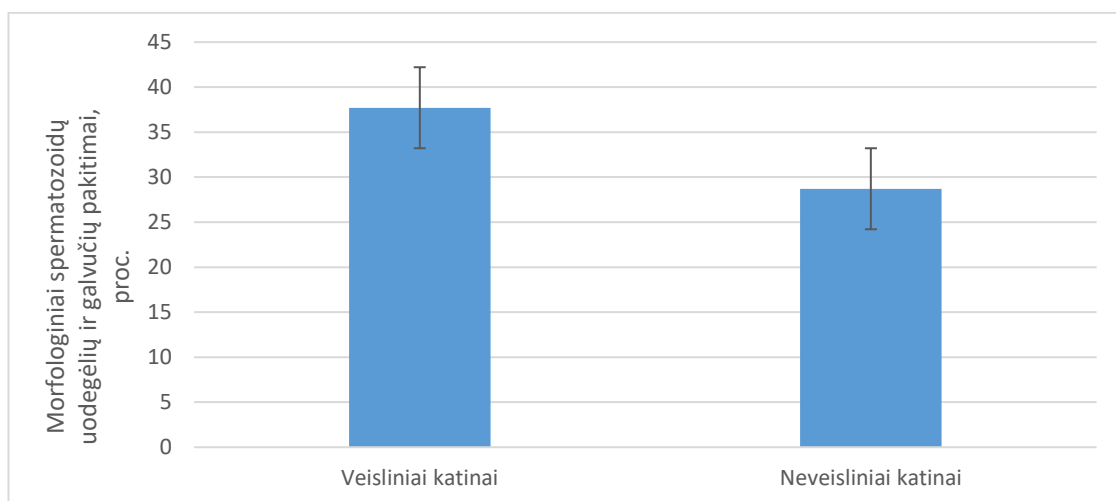
10 pav. Spermatozoidų judrumo rodiklių palyginimas tarp veislinių ir neveislinių katinų ($p < 0,05$)

Katinių veislės įtaka spermatozoidų gyvybingumui. Nustatyta, kad spermatozoidų gyvybingumo rodikliai tarp veislinių ir neveislinių katinų grupių statistiškai patikimai skyrėsi ($p < 0,05$). Didesnis spermatozoidų gyvybingumo vidurkis fiksuojamas neveislinių katinų grupėje ($78,48 \pm 7,96$ proc.). Veislinių katinų grupėje spermatozoidų gyvybingumas buvo ($74,65 \pm 14,1$ proc.) (11 pav.).



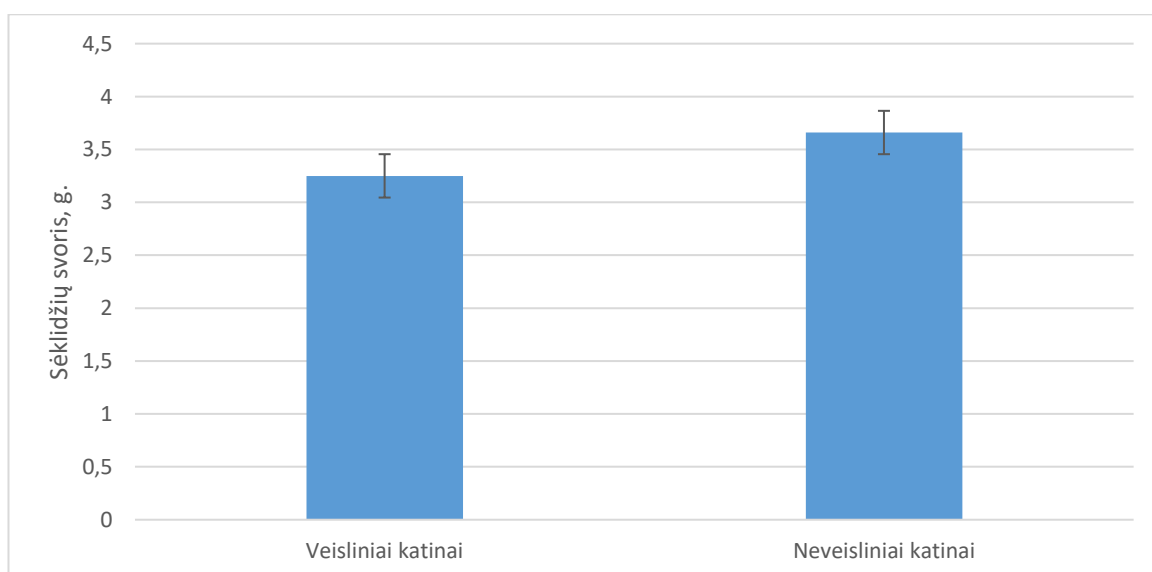
11 pav. Spermatozoidų gyvybingumo rodiklių palyginimas tarp veislinių ir neveislinių katinų ($p < 0,05$)

Katinių veislės įtaka spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimams. Nustatyta, kad spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų skaičius tarp veislinių ir neveislinių katinų grupių statistiškai patikimai skyrėsi ($p < 0,05$). Didesnis spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis fiksuojamas veislinių katinų grupėje ($37,71 \pm 19,39$ proc.). Mažesnis morfologiškai nepakitusių spermatozoidų skaičiaus vidurkis ($28,71 \pm 18,1$ proc.) nustatytas neveislinių katinų grupėje (12 pav.).



12 pav. Spermatozoidų morfologinių pakitimų palyginimas tarp veislinių ir neveislinių katinų grupių ($p < 0,05$)

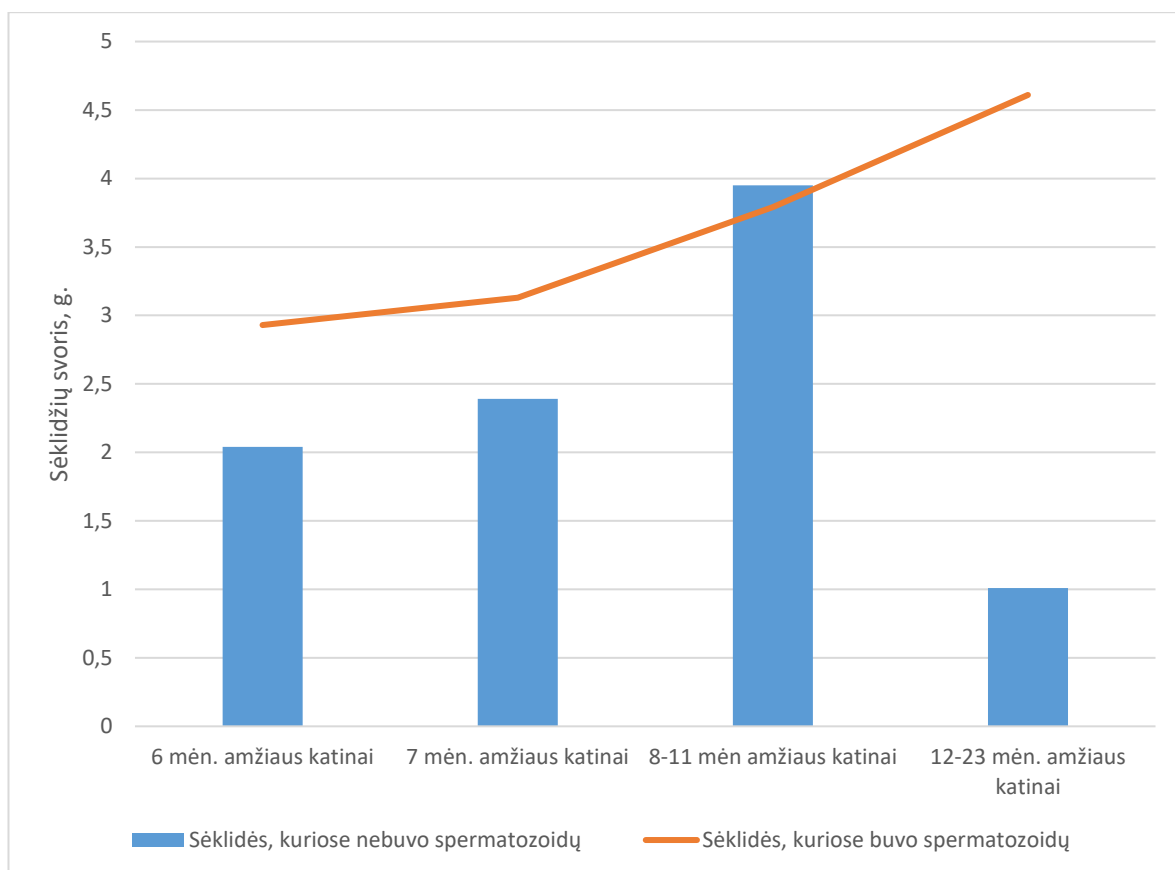
Katinių veislės įtaka sėklidžių svoriui. Nustatyta, kad sėklidžių svorio rodikliai tarp veislinių ir neveislinių katinų grupių statistiškai patikimai skyrėsi ($p < 0,05$). Nustatyta, kad didesnis sėklidžių svorio vidurkis fiksuojamas neveislinių katinų grupėje ($3,66 \pm 0,99$ g.). Veislinių katinų sėklidžių svorio vidurkis ($3,25 \pm 0,76$ g.) (13 pav.).



13 pav. Katinų sėklidžių svorio vidurkio palyginimas tarp veislinių ir neveislinių katinų ($p < 0,05$)

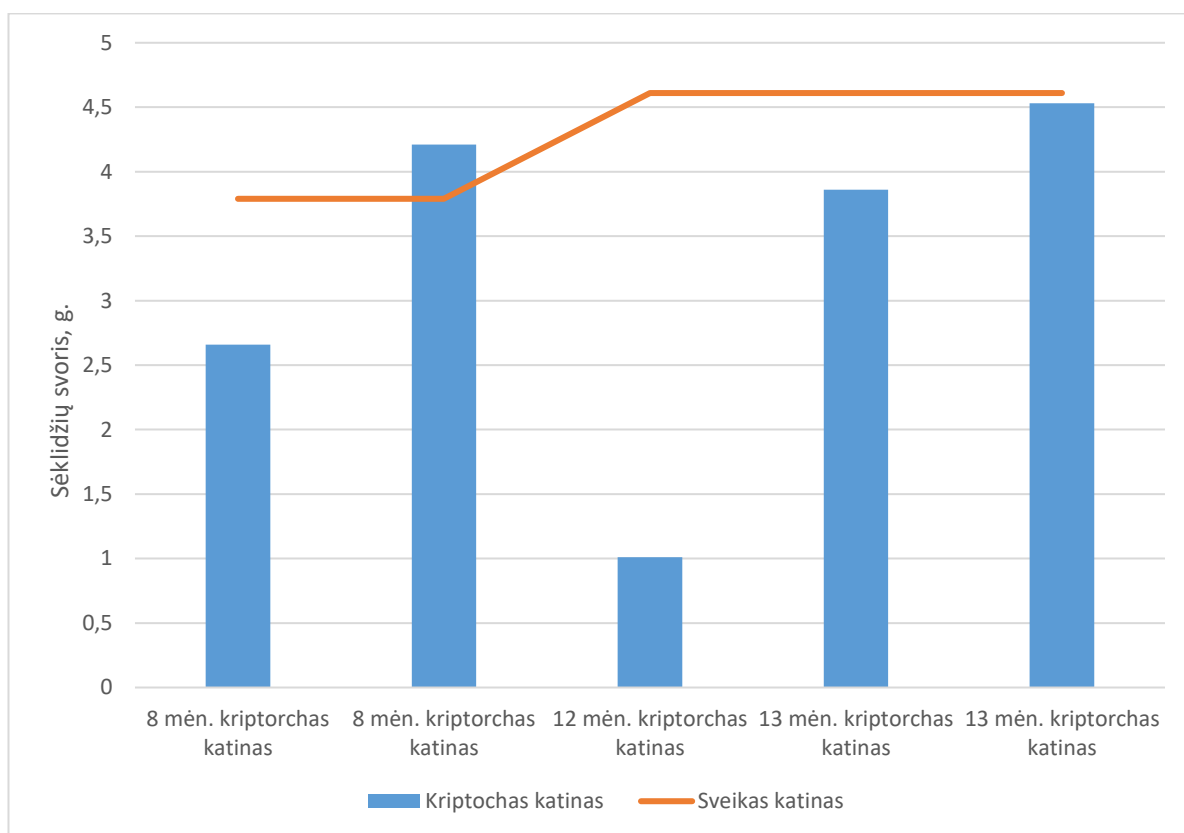
3.4 Katinų sėklidžių svorio įtaka

Katinų sėklidės, kuriose nebuvo spermatozoidų. Dešimties katinų, kurių sėklidėse nebuvo spermatozoidų, svorio vidurkis $2,2 \pm 0,79$ g. Tuo tarpu katinų, kurių sėklidėse buvo spermatozoidų, sėklidžių svorio vidurkis buvo $3,31 \pm 1,06$ g. Ištirtų visų katinų sėklidžių svorio vidurkis patikimai teigiamai koreliavo su spermatozoidų judrumu ($r = 0,54$; $p < 0,05$). Neigiamas sėklidžių svorio nuokrypis nuo grupės vidurkio pastebimas 6, 7 ir 12 mėnesių katinams: 6 mėnesių – $0,89$ g.; 7 mėnesių – $0,74$ g.; 12 mėnesių – $3,6$ g. (14 pav.).

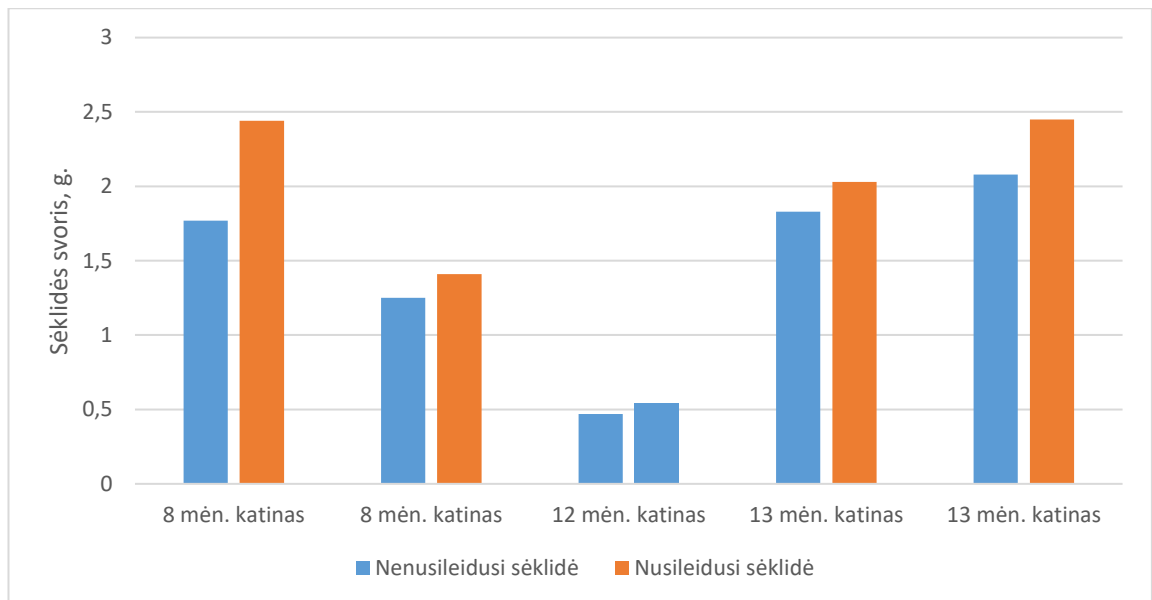


14 pav. Katinų sėklidžių svoris, kuriose nebuvo spermatozoidų, palyginamas su sėklidžių svorio vidurkiu jų amžiaus grupėse ($p < 0,05$)

Katinių sėklidės, kurios nebuvo nusileidusios į mašnelę. Iš tyrime dalyvavusių 62-iejų katinų, 5 katinai turėjo bent po vieną į mašnelę nenusileidusią sėklidę, tai sudaro 8,07 proc. tirtų katinų. Du katinai buvo 8 mėnesių, du – 13 mėnesių ir vienas katinas 12 mėnesių amžiaus. Nenusileidusiose sėklidėse spermatozoidų nebuvo rasta. Neigiamas sėklidžių svorio nuokrypis nuo grupės vidurkio pastebimas visiems katinams kriptorchams, išskyrus 8 mėnesių katino, kurio sėklidės svėrė 0,42 g. daugiau nei grupės vidurkis (15 pav.). Nusileidusios ir nenusileidusios katino sėklidės į mašnelę svoris skiriasi. Nenusileidusios sėklidės svoris yra mažesnis vidutiniškai $15,44 \pm 12,02$ proc. (16 pav.). 12 mėnesių kriptorchos katino, kurio abi sėklidės buvo pilvo ertmėje svoris siekė vos 1,01 g., tai yra 78,09 procentais mažesnis svoris nei jo grupės sėklidžių svorio vidurkis.



15 pav. Kriptorchų katinų sėklidžių svorio palyginimas (g.) su jų amžiaus grupės sėklidžių svorio vidurkiu



16 pav. Nenusileidusios sėklidės į mašnelę svorio (g.) palyginimas su nusileidusia sėklide į mašnelę

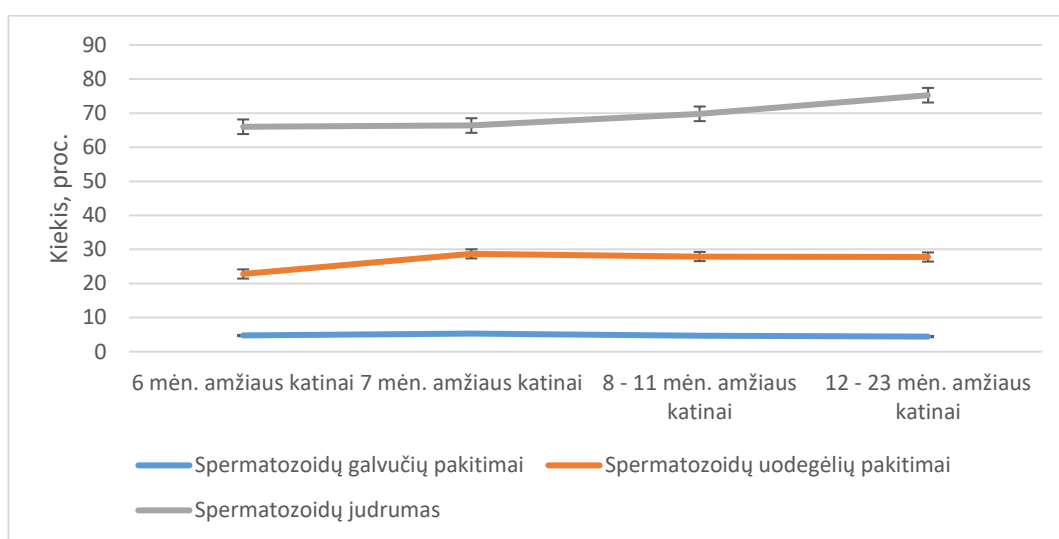
Katinių sėklidės, kurios buvo nusileidusios į mašnelę, buvo ovalo formos, tvirtos konsistencijos, rausvos spalvos. Katinių kriptochų sėklidės – netaisyklingos formos, minkštos konsistencijos, pakitusios spalvos (17 pav.)



17 pav. Kastruoto katino nenusileidusi į mašnelę sėklidė (kairėje) ir nusileidusi į mašnelę sėklidė (dešinėje)

3.5 Spermatozoidų morfologijos įtaka judrumui

Įvertinus katinų spermatozoidų morfologijos pakitimus, pastebėta (18 pav.), kad jie patikimai, neigiamai koreliuoja su spermatozoidų judrumu ($r = -0,81$; $p < 0,05$). Didžiausias spermatozoidų judrumo vidurkis fiksuojamas 12–23 mėn. amžiaus grupėje ($75,25 \pm 9,55$ proc.), kur spermatozoidų su pataloginėmis uodegėlėmis kiekis buvo vienas mažiausių grupėje ($32,61 \pm 9,55$ proc.). Tačiau vertinant tik spermatozoidų galvučių paktimų įtaką judrumui, koreliacija patikima, neigiama ($r = -0,05$; $p < 0,05$). Įvertinus spermatozoidų uodegėlių pakitimų kiekio įtaką judrumui, nustatyta, kad spermatozoidų judrumo rodikliai tarp katinų skirtingo uodegėlių pakitimo kiekio statistiškai patikimai, neigiamai koreliuoja ($r = -0,8$; $p < 0,05$).



18 pav. Spermatozoidų morfologijos pakitimų įtaka judrumui ($p < 0,05$)

4. REZULTATŲ APITARIMAS

Populiarėjant dirbtiniam kačių sėklinimui svarbu užtikrinti tinkamą spermos kokybę. Spermos mėginys gaunamas naudojant dirbtinę makštį, transrektalinę elektrostimuliaciją ar kateterizuojant šlaplę. Gaišus katinui, jo spermą galima išgauti supjausčius antsėklidį. Norint užtikrinti rezultatyvų apvaisinimą spermos mėginiai yra tiriami. Sperma tirama šviesiniu mikroskopu, įvertinant spermatozoidų judrumą, gyvybingumą, galvučių ir uodegėlių pakitimus.

Atlikti tyrimai ir išanalizuoti duomenys parodė, kad didžiausias spermatozoidų judrumas fiksuojamas 12–23 mėn. amžiaus katinų grupėje. Tokio amžiaus katinai yra subrendę ne tik lytiškai, bet ir fiziologiškai, kas lemia ir didesnę sėklidžių svorį, lyginant su jaunesniais katinais ($p < 0,05$). Nustatyta, kad katinų sėklidžių svorio vidurkis teigiamai koreliuoja su katinų amžiumi ($r = 0,51$). 8–11 mėn. amžiaus katinų grupėje nustatytas didžiausias spermatozoidų gyvybingumo vidurkis. Gyvybingų spermatozoidų procentas koreliavo su katinų amžiumi ($r = 0,2$; $p < 0,05$). 7 mėn. amžiaus katinų grupėje didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis.

Pavasarij kastruotų katinų spermos rodikliai buvo geriausi atsižvelginat į spermatozoidų judrumą, gyvybingumą. Judančių spermatozoidų procentas neigiamai patikimai koreliavo su metų laiku ($r = -0,68$; $p < 0,05$). Iširtų visų katinų spermoje gyvybingų spermatozoidų procentas neigiamai, patikimai koreliavo su metų laiku ($r = -0,59$; $p < 0,05$). Rudenį fiksuojamas didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis ($54,54 \pm 13,28$ proc). Iširtų visų katinų spermoje morfologiškai pakitusių spermatozoidų procentas teigiamai, patikimai koreliavo su metų laiku ($r = 0,55$; $p < 0,05$). Axnér E. ir Linde Forsberg C. atliktų tyrimų duomenimis normalių, be pakitimų spermatozoidų koncentracija spermoje yra didesnė vasario–liepos mėnesiais, nei rugpjūčio–sausio mėnesiais. Daugiausia normalių spermatozoidų buvo subrandinama reprodukcijos sezono metu. Tai rodo, kad fotoperiodas gali turėti įtakos katinų vaisingumui (6).

Suskirsčius katinus į veislinius ir neveislinius, nustatyta, kad neveislinių katinų grupėje fiksuojamas ne tik didesnis spermatozoidų judrumo vidurkis, gyvybingumo vidurkis, sėklidžių svorio vidurkis, bet ir mažesnis morfologiškai nepakitusių spermatozoidų skaičiaus vidurkis. Veislė gali turėti įtakos spermos morfologijai. Veislinės katės dažnai būna kilusios iš veisiamų giminingų kačių arba jos gali būti atrenkamos, atsižvelgiant į kitus kriterijus nei vaisingumas (6).

Anatomiškai normali katinų sėklidžių lokalizacija yra mašnelėje po gimimo. Kriptochizmo atvejų katėms pasitaiko retai, apie 1,3–3,8 proc. Atliktame tyrime iš 62-iejų tirtų katinų, 5 katinai turėjo bent po vieną į mašnelę nenusileidusią sėklidę, tai sudaro 8,07 proc. tirtų katinų. Du katinai buvo 8 mėnesių, du – 13 mėnesių ir vienas katinas 12 mėnesių amžiaus. Nenusileidusiose sėklidėse spermatozoidų nebuvo rasta. Neigiamas sėklidžių svorio nuokrypis nuo grupės vidurkio pastebimas visiems katinams kriptorchams, išskyrus 8 mėnesių katino, kurio sėklidės svėrė 0,42 g. daugiau, nei

grupės vidurkis. Nusileidusios ir nenusileidusios katino sėklidės į mažnelę svoris skiriasi. 12 mėnesių kriptorcho katino, kurio abi sėklidės buvo pilvo ertmėje svoris siekė vos 1,01 g., tai yra 78,09 procentais mažesnis svoris, nei jo amžiaus grupės. Literatūroje teigiama, kad dažniausiai pasitaiko vienpusis kriptorchizmas (78–90 proc.). Mano atlikto tyrimo metu vienpusis kriptorchizmas sudarė 80 proc. visų kriptorchizmo atvejų.

Literatūroje teigiama kad, jei sėklidė yra kirkšnyje arba kirkšnies kanale, dažniausiai spermatogenezė nesutrunka, tačiau mano tyrimo metu tokioje sėklidėje spermatozoidų nebuvo aptikta. Aukštesnė nei normali sėklidės temperatūra stabdo spermatozoidų formavimąsi (33).

Dešimties katinų, kurių sėklidėse nebuvo spermatozoidų, sėklidžių svorio vidurkis buvo 33,53 proc. mažesnis nei katinų, kurių sėklidėse buvo spermatozoidų.

Įvertinus katinų spermatozoidų morfologinius pakitimus, pastebėta, kad jie neigiamai, patikimai koreliuoja su spermatozoidų judrumu ($r = -0,81$; $p < 0,05$). Vertinant tik spermatozoidų galvučių pakitimų įtaką judrumui – koreliacija silpna ($r = -0,05$; $p < 0,05$). Įvertinus spermatozoidų uodegėlių pakitimus nustatyta, kad spermatozoidų judrumas patikimai, neigiamai koreliuoja su spermatozoidų uodegėlių pakitimų kiekiu ($r = -0,8$; $p < 0,05$).

IŠVADOS

1. 12–23 mėn. amžiaus grupėje fiksuojamas didžiausias spermatozoidų judrumas ir didžiausias sėklidžių svorio vidurkis ($p < 0,05$). 8–11 mėn. amžiaus katinų grupėje nustatytas didžiausias spermatozoidų gyvybingumo vidurkis ($p < 0,05$). 7 mėn. amžiaus katinų grupėje pastebėtas didžiausias spermatozoidų galvučių ir uodegėlių pakitimų vidurkis ($p < 0,05$).
2. Didžiausias spermatozoidų judrumas ir gyvybingumas nustatytas pavasarį. Didžiausias gyvybingumas užfiksuotas pavasarį - kovo mėnesį. Judančių, gyvybingų ir morfologiškai pakitusių spermatozoidų procentas patikimai koreliavo su metų laiku (atitinkamai $r = -0,68$; $r = 0,57$; $r = -0,69$ $p < 0,05$).
3. Neveislinių katinų grupėje užfiksuotas didesnis spermatozoidų judrumo, gyvybingumo, sėklidžių svorio vidurkis ir mažesnis morfologiškai nepakitusių spermatozoidų skaičiaus vidurkis nei veislinių katinų.
4. Katinų, kurių sėklidėse nebuvo spermatozoidų, sėklidžių svorio vidurkis buvo $2,2 \pm 0,79$ g. Tuo tarpu katinų, kurių sėklidėse buvo spermatozoidų svorių vidurkis buvo $3,31 \pm 1,06$ g. Visų ištirtų katinų sėklidžių svorio vidurkis patikimai, teigiamai koreliavo su spermatozoidų judrumu ($r = 0,54$; $p < 0,05$).
5. Įvertinus katinų spermatozoidų morfologinius pakitimus, pastebėta, kad jie stipriai, patikimai, neigiamai koreliuoja su spermatozoidų judrumu ($r = -0,81$; $p < 0,05$). Vertinant tik spermatozoidų galvučių pakitimų įtaką judrumui - koreliacija silpna ($r = -0,05$; $p < 0,05$). Įvertinus spermatozoidų uodegėlių pakitimus nustatyta, kad spermatozoidų judrumas patikimai, neigiamai koreliuoja su spermatozoidų uodegėlių pakitimų kiekiu ($r = -0,8$; $p < 0,05$).

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Turner D. C. Bateson P. *The Domestic Cat– The Biology of Its Behaviour*. 2th edition. Cambridge University Press; 2000.
2. Bradshaw J. W. S. Casey R. A. Brown S. L. *The Behaviour of the Domestic Cat*. 2th edition. CABI; 2013.
3. Blaževičius P., Dambrauskaitė N., Luik H., Piličiauskienė G., Rumbutis S., Zarankaitė-Margienė T. *Vilniaus pilių fauna: nuo kepsnio iki draugo*. Monografija, Vilnius, 2018.
4. França LR, Godinho CL. Testis Morphometry, Seminiferous Epithelium Cycle Length, and Daily Sperm Production in Domestic Cats (*Felis catus*). *Biol Reprod*. 2003;68(5):1554-61.
5. Brusentsev E, Kizilova E, Mokrousova V, Kozhevnikova V, Rozhkova I, Amstislavsky S. Characteristics and fertility of domestic cat epididymal spermatozoa cryopreserved with two different freezing media. *Theriogenology* 2018;110:148-152.
6. Axnér E, Linde Forsberg C. Sperm morphology in the domestic cat, and its relation with fertility: a retrospective study. *Reprod Domest Anim*. 2007;42(3):282-91.
7. Neubauer K, Jewgenow K, Blottner S, Wildt DE, Pukazhenti BS. Quantity rather than quality in teratospermic males: a histomorphometric and flow cytometric evaluation. *Biol Reprod*. 2004;71(5):1517-24.
8. Jewgenow K, Pukazhenti BS, Schoen J. Analysis of Sertoli cell efficiency allows the differentiation between two fundamentally different forms of feline teratospermia. *Theriogenology*. 2013;79(2):261-6.
9. Choi EG, Lee YS, Cho SJ, Jeon JT, Cho KW, Kong IK. Semen characteristics of genetically identical male cats cloned via somatic cell nucleus transfer. *Theriogenology*. 2010;73(5):638-44.
10. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Science; 2002.
11. Phillips DM. Cell surface structure of rodent sperm heads. *J Exp Zool*. 1975;191(1):1-8.
12. Sato N, Oura C. The fine structure of the neck region of cat spermatozoa. *Okajimas Folia Anat Jpn*. 1984;61(4):267-85.
13. Fok KL, Chen H, Ruan YC, Chan HC. Novel regulators of spermatogenesis. *Sem Cell Dev Biol*. 2014;29:31–42.
14. Jan SZ, Hamer G, Repping S, de Rooij DK, van Pelt AMM, Vormer TL. Molecular control of rodent spermatogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1822:1838–50.
15. Franca LR, Avelar GF, Almeida FFL. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology*. 2005;63:300–18.

16. Gillan L, Evans G, Maxwell WMC. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology*. 2005;63:445–57.
17. England G, von Heimendahl A. *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*. 2nd edition. Gloucester: BSAVA; 2011.
18. Leme DP, Visacre E, Castro VB, Lopes MD. Testicular cytology by fine needle aspiration in domestic cats. *Theriogenology*. 2018;106:46-52
19. Neubauer K, Jewgenow K, Blottner S, Wildt DE, Pukazhenthil BS. Quantity rather than quality in teratospermic males: a histomorphometric and flow cytometric evaluation of spermatogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). *Biol Reprod*. 2004;71:1517-24.
20. Raskin R, Meyer D. *Canine and Feline Cytology*. 2nd edition. Saunders: 2009.
21. Shahiduzzaman AKM, Linde–Forsberg C. Induced immotility during long–term storage at +5 oC does not prolong survival of dog spermatozoa. *Theriogenology*. 2007;68:920–33.
22. Prochowska S, Nizański W, Partyka A. Low levels of apoptotic-like changes in fresh and cryopreserved feline spermatozoa collected from the urethra and epididymis. *Theriogenology*. 2017;88:43-49
23. Rijsselaere T, Van Soom A. Semen collection, assessment and artificial insemination in the cat. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 2010;79:467-70.
24. Vernocchi V, Morselli MG, Varesi S, Nonnis S, Maffioli E, Negri A, Tedeschi G, Luvoni GC. Sperm ubiquitination in epididymal feline semen. *Theriogenology*. 2014;82(4):636-42
25. Schatten H, Constantinescu GM. *Comparative Reproductive Biology*. Iowa: Blackwell Publishing; 2007.
26. Jiménez E, Pérez-Marín CC, Millán Y, Agüera E. Influence of anaesthetic drugs on the epididymal sperm quality in domestic cats. *Anim Reprod Sci*. 2011;123(3-4):265-9.
27. Zambelli D, Cunto M. Semen collection in cats: techniques and analysis. *Theriogenology*. 2006;66:159-65.
28. Furthner E, Cordonnier N, Le Dudal M, Fontbonne A, Freiche V. Is electroejaculation a safe procedure in cats? An endoscopic and histological prospective blinded study. *Theriogenology*. 2018;119:69-75.
29. Chatdarong K, Ponglowhapan S, Manee-in S, Pongphet K. The use of propofol for electroejaculation in domestic cats. *Theriogenology*. 2006;66(6-7):1615-7
30. Barnes SA, Cepeda AM, Penfold LM. Effects of radiographic contrast media on domestic cat epididymal sperm. *Theriogenology*. 2011;75(2):329-36
31. Rijsselaere T, Van Soom A, Maes D, Nizanski W. Computer–Assisted Sperm Analysis in Dogs and Cats: An Update after 20 Years. *Reprod Dom Anim*. 2012;47:1–4.
32. De Jonge C, Barratt C. *The sperm cell*. Cambridge: Cambridge University Press; 2010.

33. Little S. Feline reproduction: problems and clinical challenges. *J Feline Med Surg.* 2011;13(7):508-15.
34. Pukahenthi BS, Wildt DE, Howard JG. The phenomenon and significance of teratospermia in felids. *J Reprod Fertil Suppl.* 2001;57:423–33.
35. Villaverde AI, Fioratti EG, Ramos RS, Neves RC, Cardoso GS, Landim-Alvarenga FC, Lopes MD. High incidence of 'Dag-like' sperm defect in the domestic cat. *Feline Med Surg.* 2013;15(4):317-22
36. Mocé E, Graham JK. In vitro evaluation of sperm quality. *Anim Reprod Sci.* 2008;105:104 –18.
37. Long JA, Wildt DE, Wolfe BA, Critser JK, DeRossi RV, Howard J. Sperm capacitation and the acrosome reaction are compromised in teratospermic domestic cats. *Biol Reprod.* 1996;54(3):638-46.
38. Silva PFN, Gadella BM. Detection of damage in mammalian sperm cells. *Theriogenology.* 2006;65:958–78.
39. Grisolia M, Faya M, Marchetti C, Merlo ML, D Francisco F, Bellini MJ, Gobello C. Physical, histological, endocrinological and steroidogenical evaluation of male cats postnatally exposed to sexual steroids. *Theriogenology.* 2019;138:47-51.
40. Falchi L, Khalil WA, Hassan M, Marei WFA. Perspectives of nanotechnology in male fertility and sperm function. *Int J Vet Sci Med.* 2018 12;6(2):265-269
41. Hafez ESE, Hafez B. *Reproduction in Farm Animals.* 7th edition. Hoboken: Wiley–Blackwell; 2000.
42. VALSTYBINĖS MAISTO IR VETERINARIJOS TARNYBOS DIREKTORIAUS ĮSAKYMAS. *Dėl Lietuvos bandomųjų gyvūnų naudojimo etikos komisijos prie valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos sudarymo ir jos darbo reglamento patvirtinimo.* 2012 m. lapkričio 6 d. Nr. B1-870 Vilnius. [elektroninis išteklius] [žiūrėta 2019 m. gruodžio 15 d.]. Prieiga per internetą: <https://e-seimas.lrs.lt/portal/legalAct/lt/TAD/TAIS.437083/AbrSTvgJCF?jfwid=12m1b0xbcy>

PRIEDAI

	Kastracijos data (mėn)	Amžius (mėn.)	Katino svoris (kg.)	Kairiosios sėklidės svoris (g.)	Dešniosios sėklidės svoris (g.)	Sėklidžių svorio suma (g.)	Sėklidžių svorio skirtumas (g.)
1.	9	6	2,1	0,64	0,7	1,34	-0,06
2.	4	6	2,2	1,04	1	2,04	0,04
3.	8	6	2,5	0,93	1,01	1,94	-0,08
4.	9	6	3,5	1,07	1,13	2,2	-0,06
5.	2	6	3,1	1,18	1,24	2,42	-0,06
6.	12	6	3,5	1,4	1,36	2,76	0,04
7.	1	6	3,6	1,56	1,5	3,06	0,06
8.	3	6	3,5	1,66	1,54	3,2	0,12
9.	10	6	4	1,2	1,15	2,35	0,05
10.	8	6	3,1	1,26	1,28	2,54	-0,02
11.	1	6	3,7	1,22	1,2	2,42	0,02
12.	8	6	3,1	1,67	1,61	3,28	0,06
13.	7	6	2,9	1,46	1,5	2,96	-0,04
14.	6	6	3,5	1,45	1,38	2,83	0,07
15.	9	6	3,7	1,15	1,19	2,34	-0,04
16.	5	6	3,4	1,72	1,73	3,45	-0,01
17.	12	6	3,2	1,21	1,17	2,38	0,04
18.	3	6	4	1,98	1,93	3,91	0,05
19.	9	7	3,8	2,1	1,95	4,05	0,15
20.	2	7	1,2	1,4	1,31	2,71	0,09
21.	3	7	3,1	1,28	1,25	2,53	0,03
22.	4	7	5,2	1,43	1,55	2,98	-0,12
23.	5	7	3,9	1,81	1,96	3,77	-0,15
24.	6	7	3,2	1,56	1,43	2,99	0,13
25.	7	7	2,9	1,15	1,21	2,36	-0,06
26.	10	7	3,2	1,39	1,48	2,87	-0,09
27.	9	7	3,8	1,74	1,64	3,38	0,1
28.	3	7	3,2	1,35	1,31	2,66	0,04
29.	2	7	3,9	1,41	1,48	2,89	-0,07
30.	1	7	3,3	1,39	1,45	2,84	-0,06
31.	9	7	3,3	1,5	1,46	2,96	0,04
32.	10	7	3,8	1,75	1,81	3,56	-0,06
33.	11	7	4,1	2,33	2,3	4,63	0,03
34.	4	7	3,1	1,02	1,09	2,11	-0,07
35.	12	7	3	1,51	1,61	3,12	-0,1
36.	6	7	3,7	1,36	1,31	2,67	0,05
37.	11	7	3,7	1,49	1,47	2,96	0,02
38.	10	8	4,5	1,42	1,48	2,9	-0,06
39.	7	8	4,4	2,29	2,34	4,63	-0,05
40.	8	8	3,5	1,41	1,25	2,66	0,16
41.	10	8	5,9	2,89	2,79	5,68	0,1
42.	8	8	4,7	1,73	1,71	3,44	0,02
43.	5	8	4,6	2,77	2,64	5,41	0,13
44.	4	8	4,4	1,77	2,44	4,21	-0,67
45.	3	8	3,8	1,64	1,68	3,32	-0,04
46.	2	8	3,5	1,34	1,29	2,63	0,05
47.	8	9	3,9	1,37	1,35	2,72	0,02
48.	10	9	4,1	2,03	2,18	4,21	-0,15
49.	9	10	4	2,18	2,06	4,24	0,12
50.	10	11	3,6	2,05	1,9	3,95	0,15
51.	8	11	3,9	1,6	1,55	3,15	0,05
52.	2	11	3,9	1,98	1,93	3,91	0,05
53.	8	12	3,5	0,47	0,54	1,01	-0,07
54.	3	12	3,8	3	2,98	5,98	0,02
55.	11	12	4	1,89	1,82	3,71	0,07
56.	4	12	4,2	2,85	2,88	5,73	-0,03
57.	12	13	4,8	2,26	2,17	4,43	0,09
58.	5	13	4,6	2,25	2,16	4,41	0,09
59.	6	13	3,9	1,83	2,03	3,86	-0,2
60.	7	13	3,4	2,45	2,08	4,53	0,37
61.	8	22	4,8	2,55	2,46	5,01	0,09
62.	9	23	4,7	1,91	1,92	3,83	-0,01

1 priedas. Kastruotų katinų amžiaus, kūno svorio, sėklidžių svorio duomenys

	Galvučių pakitimai (proc.)	Kriaušės formos galvutės (proc.)	Siauro pagrindo (proc.)	Pakitusi galvučių forma (proc.)	Laisvos patologinės galvutės (proc.)	Siauros galvutės (proc.)	Paracentrinė uodegėlės implantacija (proc.)	Dydžio pakitimai (proc.)
1.	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	0	0	0	0	0
4.	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	4,8	0,4	0	2	0	1	0,2	1,2
6.	7,6	1,8	0,4	2,8	0,4	0,8	0	1,4
7.	5,6	1	0,4	2,2	0,6	0,4	0	1
8.	6,4	1,8	0,2	3	0,4	0	0,2	0,8
9.	0	0	0	0	0	0	0	0
10.	1,8	0	0	0,8	0,4	0,2	0	0,4
11.	4,2	0,8	0	1,8	0,8	0,4	0	0,4
12.	2	0	0	1	0,4	0,2	0	0,4
13.	5,8	0,8	0	1,8	0,2	0,6	0	2,4
14.	7,2	1,6	0,2	3,2	0,4	0,4	0	1,4
15.	0	0	0	0	0	0	0	0
16.	4	1,2	0	1,6	0,4	0,4	0	0,4
17.	3,2	0,6	0	1,4	0,8	0,4	0	0
18.	4,2	2,2	0,2	1,2	0	0	0,2	0,4
19.	6	0,8	0,2	2,2	0,2	0,8	0	1,8
20.	4,6	1	0,2	1,6	0,8	0,2	0	0,8
21.	2,8	0	0	1	0,4	0,2	0,4	0,8
22.	4,4	0,4	0	1,8	0,2	0,6	0	1,4
23.	8,6	0,8	0,4	4,2	0,4	0,8	0	2
24.	8,2	1,8	0,4	4,8	0	0,2	0	1
25.	1,4	0	0	0,6	0	0,2	0	0,6
26.	2,4	0	0	0,8	0,4	0,4	0	0,8
27.	2,8	0,4	0	0,8	1	0	0	0,6
28.	4,6	0,2	0,6	1,8	0	0	0,4	1,6
29.	3,6	0,8	0	2	0,4	0	0	0,4
30.	9,2	2,6	0,6	4	0,2	0,4	0,2	1,2
31.	5,8	1,6	0,4	2,8	0	0,4	0	0,6
32.	6,4	0,6	0,4	4,2	0,4	0	0	0,8
33.	6,6	0,4	0	3,8	0,8	0,6	0,2	0,8
34.	0	0	0	0	0	0	0	0
35.	6,6	2	0,4	1,4	0,6	0,8	0,4	1
36.	0	0	0	0	0	0	0	0
37.	6,2	1	0	2,4	0,8	0,8	0,4	0,8
38.	4,6	0,2	0,2	1,8	1	0,6	0	0,8
39.	3,2	0,4	0	1,4	0	0,4	0	1
40.	5,6	0,8	0,4	2	0,4	0,6	0	1,4
41.	3,8	0	0	1,6	1	0,4	0	0,8
42.	3,6	0,8	0	1	0,4	0,6	0	0,8
43.	5,2	0	0,2	2,2	0,2	0,8	0	1,8
44.	3,8	0,6	0	1,2	0	0,4	0	1,6
45.	2,2	0	0	1,4	0	0	0	0,8
46.	5,6	1,2	0	2,4	0,4	0,8	0	0,8
47.	2,8	0	0	0,6	1,2	0,8	0	0,2
48.	6	2	0	2,4	0,8	0	0	0,8
49.	7,8	2,2	0,6	2,4	0,2	0,8	0	1,6
50.	0	0	0	0	0	0	0	0
51.	6,6	0,4	0,4	4,4	0,8	0	0	0,6
52.	4,8	0,6	0,4	2,4	0	0,4	0	1
53.	0	0	0	0	0	0	0	0
54.	2,6	0	0	1	0,8	0	0	0,8
55.	1,8	0	0	0,6	1	0	0	0,2
56.	3,4	0,4	0	1	0,4	0,4	0	1,2
57.	5,2	1,2	0	1,8	0,4	0,6	0	1,2
58.	6,4	1,8	0,6	2,4	0	0,8	0,2	0,6
59.	4,8	0,6	0,4	2,2	0,4	0	0	1,2
60.	3,2	0,4	0	0,8	0,2	1	0	0,8
61.	4,2	1	0,4	1,6	0	0,4	0	0,8
62.	8,2	2	0,4	2,4	1,2	1	0,4	0,8

2 priedas. Kastruotų katinų spermatozoidų galvučių pakitimai

	Proksimaliniai lašeliai (proc.)	Distaliniai lašeliai (proc.)	Atsiskyrusios galvutės (proc.)	Akrosomų defektai (proc.)	Vidurinės dalies pakitimai (proc.)	Paprastai susisukusios uodegėlės (proc.)	Susisukusios po galva uodegėlės (proc.)	Dvigubai sulinkusios uodegėlės (proc.)	Uodegėlių pakitimai (proc.)
1.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5.	0	0,5	1	0	1	2	0,5	0,5	5,5
6.	2	14,5	2,5	0	2,5	10	2	1,5	35
7.	3,5	12,5	6	0	7,6	14	2,5	2	48,1
8.	2,5	8	2,5	0	1,5	3	0,5	0,5	18,5
9.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10.	1	7	3,5	0	2,5	10	1,5	1,5	27
11.	3,5	13,5	6	0	7	12,5	2	2	46,5
12.	3	4	2	0	2,5	6	1,5	0,5	19,5
13.	1,5	1	0,5	0	1	2,5	0	0	6,5
14.	1	1	1,5	0	2	2	0,5	0	8
15.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16.	0	1	2	0	1,5	1,5	0	0	6
17.	6,5	10,5	5,5	0	3	13	0	3,5	42
18.	2	5	2	0	2	2,0	0,5	0,5	11
19.	2	4	0,5	0	8	13,5	1	1,5	30,5
20.	0,5	1	1	0	2	2	0,5	0	7
21.	0,5	0,5	0,5	0	1,5	1	0,5	0,5	5
22.	0	0	2	0	11	6	1	1,5	21,5
23.	1	2	3	0	1,5	5	3	4,5	20
24.	0	2	1,5	0	1,5	2	0	0	7
25.	1	1,5	1,5	0	2	4	1	3,5	14,5
26.	6	18,5	7,5	0	12,5	20	4	5	73,5
27.	4	14	7	0	6	13	2	1,5	47,5
28.	1	1	1,5	0	2	11	0,5	0,5	17,5
29.	1,5	2	2	0	3,5	13	1	2	25
30.	2	6,5	3,5	0	3	7,5	1,5	1	25
31.	7,5	19	1	0	3,5	12,5	2	0,5	46
32.	3	5,5	3,5	0,5	10	15	4,5	2	44
33.	2,5	5	4,5	0	3	13,5	1,5	0	30
34.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
35.	1	2,5	3,5	0	2	11	0	0,5	20,5
36.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37.	4,5	19	3,5	0	2,5	22	1	1	53,5
38.	8,5	25,5	8	0	2	1	0	1,5	46,5
39.	0	2,5	3	0	1,5	1	0	0	8
40.	1,5	3	0,5	0	1,5	2	0	0	8,5
41.	0,5	4	6	0	3	29	4	3	49,5
42.	2,5	10	4,5	0	3	16,5	0,5	1,5	38,5
43.	1,5	1,5	2	0	2	4,5	0	0	11,5
44.	0	0	0,5	0	1,5	1	0,5	0,5	4
45.	0	0,5	1	0	1	2,5	0	0	5
46.	1,5	2	3	0	2	5	1	0,5	15
47.	2,5	6,5	5	0	3,5	14	1,5	0	33
48.	5	13,5	6,5	0	8,5	15	2	2,5	53
49.	11,5	18,5	8	0	3,5	22,5	1	4,5	69,5
50.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51.	7	12,5	5,5	0	6,5	12	0	1,5	45
52.	0	0,5	1	0	1,5	1	0	0	4
53.	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54.	1	0,5	5,5	0	1,5	8	4	2	22,5
55.	4	13	6,5	0	7	14	2,5	1,5	48,5
56.	2	3,5	0,5	0	4	13	0,5	1	24,5
57.	10	19	3,5	0	4,5	22	1,5	1	61,5
58.	0	1,5	0,5	0	1,5	1,5	0,5	0	5,5
59.	1	2,5	2,5	0	2,5	16	4,5	3,5	32,5
60.	1,5	2,5	2	0	4,5	5	4,5	0,5	20,5
61.	1	1,5	1	0	2	2,5	0	0,5	8,5
62.	1,5	3,5	4	0	5,5	11	0	0,5	26

3 priedas. Kastruotų katinų spermatooidų uodegėlių pakitimai