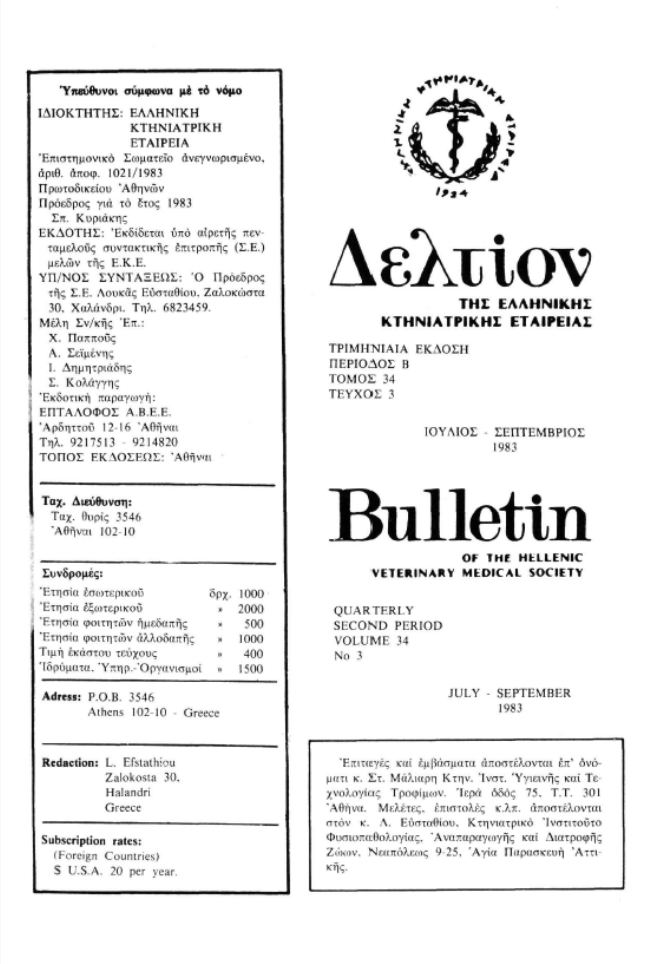
ePublishing

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 34, No 3 (1983)



'Υπεύθυνοι σύμφωνα μέ τό νόμο
ΙΔΙΟΚΤΗΤΗΣ: ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
'Επιστημονικό Σωματείο ἀνεγνωρισμένο, ἀριθ. ἀποφ. 1021/1983 Πρωτοδικείου 'Αθηνῶν
Πρόεδρος γιά τό ἔτος 1983 Σπ. Κοριάκης
ΕΚΔΟΤΗΣ: 'Εκδίδεται ὑπό αἱρετῆς πενταμελοῦς συντακτικῆς ἐπιτροπῆς (Σ.Ε.) μελῶν τῆς Ε.Κ.Ε.
ΥΠ/ΝΟΣ ΣΥΝΤΑΞΕΩΣ: 'Ο Πρόεδρος τῆς Σ.Ε. Λουκᾶς Εὐσταθίου, Ζαλοκώστα 30, Χαλάνδρι. Τηλ. 6823459.
Μέλη Συν/κῆς 'Επ.:
Χ. Παπποῦς
Α. Σεῖμένης
Ι. Δημητριάδης
Σ. Κολάγγης
'Εκδοτική παραγωγή:
ΕΠΤΑΛΟΦΟΣ Α.Β.Ε.Ε.
'Αρδηττοῦ 12-16 'Αθῆναι
Τηλ. 9217513 - 9214820
ΤΟΠΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ: 'Αθῆναι

Ταχ. Διεύθυνση:
Ταχ. θυρίς 3546
'Αθῆναι 102-10

Συνδρομές:

'Ετησία ἐσωτερικοῦ	δρχ.	1000
'Ετησία ἐξωτερικοῦ	»	2000
'Ετησία φοιτητῶν ἡμεδαπῆς	»	500
'Ετησία φοιτητῶν ἀλλοδαπῆς	»	1000
Τιμή ἑκάστου τεύχους	»	400
'Ιδρύματα, 'Υπηρ.-'Οργανισμοί	»	1500

Adress: P.O.B. 3546
Athens 102-10 - Greece

Redaction: L. Efstathiou
Zalokosta 30,
Halandri
Greece

Subscription rates:
(Foreign Countries)
$ U.S.A. 20 per year.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ 1934

Δελτίον
ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΑ ΕΚΔΟΣΗ
ΠΕΡΙΟΔΟΣ Β
ΤΟΜΟΣ 34
ΤΕΥΧΟΣ 3

ΙΟΥΛΙΟΣ - ΣΕΠΤΕΜΒΡΙΟΣ
1983

Bulletin
OF THE HELLENIC VETERINARY MEDICAL SOCIETY

QUARTERLY
SECOND PERIOD
VOLUME 34
No 3

JULY - SEPTEMBER
1983

'Επιτιεγές καί ἐμβάσματα ἀποστέλονται ἐπ' ὀνόματι κ. Στ. Μάλιαρη Κτην. Ἴνστ. 'Υγιανῆς καί Τεχνολογίας Τροφίμων. Ἱερά ὁδός 75, Τ.Τ. 301 'Αθῆνα. Μελέτες, ἐπιστολές κ.λπ. ἀποστέλονται στόν κ. Λ. Εὐσταθίου, Κτηνιατρικό 'Ινστιτοῦτο Φυσιοπαθολογίας, 'Αναπαραγωγῆς καί Διατροφῆς Ζώων, Νεαπόλεως 9-25, 'Αγία Παρασκευή 'Αττικῆς.

An improved cervical mucus penetration test

Α. Κ. ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΙΔΗΣ

doi: 10.12681/jhvms.21602

Copyright © 2019, Α. Κ. ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΙΔΗΣ

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0.

To cite this article:

ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΙΔΗΣ Α. Κ. (2019). An improved cervical mucus penetration test. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, *34*(3), 244–253. https://doi.org/10.12681/jhvms.21602

https://epublishing.ekt.gr | **e-Publisher:** EKT | **Downloaded at:** 23/01/2026 17:48:59

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ. 1983. Τ. 34. τ. 3

ΕΝΑ ΒΕΛΤΙΩΜΕΝΟ ΤΕΣΤ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΕΙΣΔΥΣΗ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ ΣΤΗΝ ΤΡΑΧΗΛΙΚΗ ΒΛΕΝΝΗ

Α.Κ. ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΙΔΗΣ*

AN IMPROVED CERVICAL MUCUS PENETRATION TEST

A.K. KARAGIANNIDIS

SUMMARY

A simple and rapid procedure for following the migration of spermatozoa in bovine cervical mucus, incorporating some of the advantages of the «coverslip» and «capillary tube» methods, is described. The method measures reproducibly the following parameters: penetration depth, density, degree and duration of motility, and it permits, at the same time, a morphological examination of the spermatozoa.

Using this method it was found that at 37°C bovine spermatozoa migrate in the cervical mucus of the oestrus cow at a constant rate, with a mean velocity of 58.0 ± 1.25μ/sec. The sperm migration rate at 30°C, and even more so at 37°C, was higher than at 22°C. There was a good correlation between velocity registered after 5,10 and 15 min. The coefficient of variation ranged from 2.7 to 21.9; higher values were recorded in samples with low rate of sperm penetration. Individual variability between samples of semen and cervical mucus was evident. Freezing and storing of cervical mucus at -30°C for one month did not alter the results of the penetration test. Dilution of semen of good motility to 30 X 10⁹/ml did not affect the readings.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οἱ δύο κυριότεροι τύποι τῶν μεθόδων ποὺ χρησιμοποιοῦνται γιὰ τὴν in vitro μέτρηση τοῦ ρυθμοῦ διείσδυσης καὶ μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη εἶναι ἡ μέθοδος τῆς «καλυπτρίδας» (Kurzrok & Miller, 1928, 1932) καὶ ἡ μέθοδος τοῦ «τριχοειδῆ σωλήνα» (Lamar et al., 1940).

Στὴ μέθοδο τῆς καλυπτρίδας τοποθετεῖται πάνω σὲ μιὰ ἀντικειμενοφόρο πλάκα μιὰ σταγόνα σπέρματος καὶ δίπλα της μιὰ σταγόνα τραχηλικῆς βλέννης. Οἱ δύο σταγόνες ἔρχονται σ' ἐπαφὴ μὲ τὴν τοποθέτηση πάνω σ' αὐτὲς μιᾶς καλυπτρίδας καὶ στὴ συνέχεια ἡ περιοχὴ ἐπαφῆς τῆς τραχηλικῆς βλέννης καὶ τοῦ σπέρματος ἐξετάζεται σ' ἕνα μικροσκόπιο γιὰ νὰ διαπιστωθεῖ ἡ διείσδυση τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη. Τροποποιήσεις τῆς μεθόδου αὐτῆς ἔχουν γίνει ἀρκετὲς (Guard, 1960· Berner & Krell, 1970· Beck, 1971· Moghissi, 1972).

Στὴ μέθοδο τοῦ τριχοειδῆ σωλήνα τραχηλικὴ βλέννη καὶ σπέρμα ἀναρροφῶνται διαδοχικὰ μέσα σ' ἕνα τριχοειδῆ σωλήνα, ἀφήνοντας μεταξύ τους μιὰ μικρὴ φυσαλίδα ἀέρα. Στὴ συνέχεια, ἐξετάζεται στὸ μικροσκόπιο ἡ στήλη τῆς τραχηλικῆς βλέννης γιὰ νὰ διαπιστωθεῖ ὁ ρυθμὸς τῆς διείσδυσης καὶ τῆς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα σ' αὐτήν. Καὶ γιὰ τὴ μέ-

* Κέντρο Τεχνητῆς Σπερματέγχυσης καὶ Νοσημάτων Ἀναπαραγωγῆς Διαβατῶν Θεσσαλονίκης.

θοδο αὐτὴ ὑπάρχουν ἀρκετὲς τροποποιήσεις (Schwartz & Zinser, 1955· Botella-Llusia, 1956· Kremer, 1965· Hagen, 1968· Carlborg, 1969· Kesserü & Larranaga, 1971· Reichman et al., 1973). Ἡ τροποίηση ποὺ χρησιμοποιεῖται συχνότερα εἶναι ἐκείνη ποὺ ἔγινε ἀπὸ τὸν Kremer (1965).

Σὲ κάθε in vitro μέθοδο προσδιορισμοῦ τῆς διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἐπιδιώκεται ἡ ἐξασφάλιση δύο βασικῶν ἀπαιτήσεων: (1) νὰ εἶναι ἡ μέθοδος ἁπλῆ καὶ νὰ ἀπαιτεῖ ὄχι πολύπλοκες συσκευὲς καὶ (2) τὰ ἀποτελέσματα νὰ εἶναι ποσοτικὰ καὶ μὲ μεγάλη ἐπαναληψιμότητα. Σκοπὸς τῆς παρούσας ἐργασίας ἦταν νὰ ἀναπτυχθεῖ μιὰ ἁπλῆ καὶ γρήγορη στὴν ἐκτέλεση μέθοδος, στὴν ὁποία νὰ εἶναι δυνατὴ ἡ μέτρηση τοῦ ρυθμοῦ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη μὲ τὴ βοήθεια μιᾶς φθηνῆς συσκευῆς, νὰ δίνει ὅμως ἡ μέθοδος αὐτὴ ἀκριβὴ καὶ μὲ μεγάλη ἐπαναληψιμότητα ἀποτελέσματα, τὰ ὁποῖα νὰ ἐπιδέχωνται στατιστικὴ ἀνάλυση.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τραχηλικὴ βλέννη

Ἡ τραχηλικὴ βλέννη συλλεγόταν ἀπὸ ἀγελάδες ποὺ βρίσκονταν σὲ οἶστρο μὲ τὴ βοήθεια ἑνὸς καθετήρα τεχνητῆς σπερματέγχυσης. Ἡ εἰσαγωγὴ τοῦ καθετήρα στὸ ἐξωτερικὸ στόμιο τοῦ αὐλοῦ τοῦ τραχήλου γινόταν μὲ τὸν ἴδιο τρόπο ὅπως καὶ στὴν τεχνητὴ σπερματέγχυση, ἡ δὲ συλλογὴ τῆς τραχηλικῆς βλέννης γινόταν μὲ ἀναρρόφηση. Δείγματα τραχηλικῆς βλέννης ποὺ περιεῖχαν κολπικὸ περιεχόμενο ἢ αἷμα ἀπορρίπτονταν. Τέλος, τὰ δείγματα τῆς τραχηλικῆς βλέννης χρησιμοποιοῦνταν εἴτε ἀμέσως μετὰ τὴ συλλογή τους, εἴτε μετὰ ἀπὸ συντήρησή τους μέσα σὲ μικροὺς πλαστικοὺς σωλῆνες σὲ -30°C.

Σπέρμα

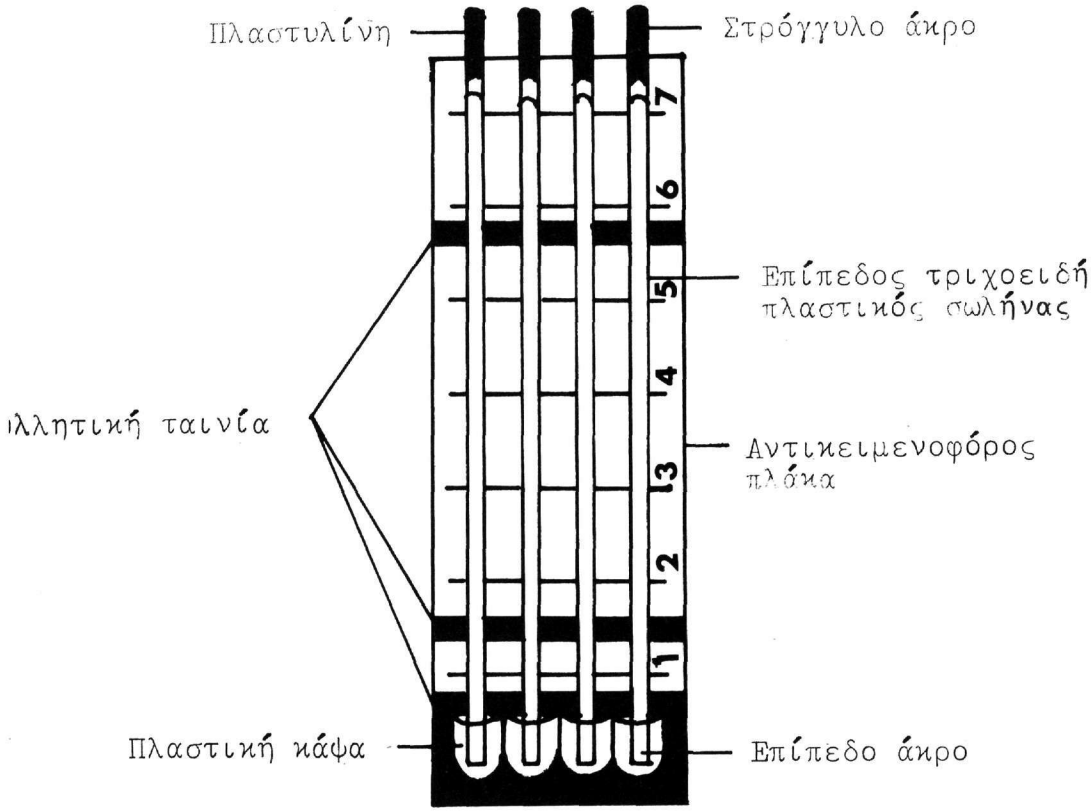
Συλλογὴ σπέρματος. Τὸ σπέρμα συλλεγόταν μὲ τὴ βοήθεια τοῦ τεχνητοῦ κόλπου μιὰ φορὰ τὴν ἑβδομάδα ἀπὸ ταύρους φυλῆς Holstein τοῦ Κέντρου Τεχνητῆς Σπερματέγχυσης καὶ Νοσημάτων Ἀναπαραγωγῆς Διαβατῶν Θεσσαλονίκης, ποὺ χρησιμοποιούνταν στὸ πρόγραμμα Τεχνητῆς Σπερματέγχυσης, ἡλικίας 3-5 ἐτῶν.

Δείγματα σπέρματος μὲ πυκνότητα μικρότερη τῶν 50 X 10^6/ml, ζωτικότητα μικρότερη τῶν 50% καὶ κινητικότητα μικρότερη τοῦ 3 (αὐθαίρετη κλίμακα 0-5) ἢ ποσοστὸ μορφολογικὰ φυσιολογικῶν σπερματοζωαρίων μικρότερο τῶν 60%, θεωρήθηκαν ὡς μὴ φυσιολογικὰ καὶ δὲ χρησιμοποιήθηκαν. Τὸ χρονικὸ διάστημα μεταξὺ σπερματοληψίας καὶ ἐκτέλεσης τοῦ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων στὴν τραχηλικὴ βλέννη δὲν ξεπερνοῦσε τὴ μισὴ ὥρα.

Αραίωση τοῦ σπέρματος. Ἡ ἀραίωση τοῦ σπέρματος γινόταν μὲ ἀραιωτικὸ ποὺ περιεῖχε 2,42% Tris, 1, 36% κιτρικὸ ὀξύ, 1% φρουκτόζη καὶ 20% κρόκο αὐγοῦ, pH 6,9.

Περιγραφὴ τῆς συσκευῆς

Ἡ συσκευή, ποὺ ἐπινοήθηκε καὶ χρησιμοποιήθηκε γιὰ πρώτη φορὰ στὴν ἐργασία αὐτή, φαίνεται διαγραμματικὰ στὸ σχῆμα 1. Αποτελεῖται ἀπὸ μιὰ ἀντικειμενοφόρο πλάκα, πάνω στὴν ὁποία τοποθετοῦνται τέσσερες πλαστικὲς κά-



Σχῆμα 1.
Σχεδιάγραμμα τῆς συσκευῆς γιὰ τὴ διείσδυση τῶν σπερματοζωαρίων στὴν τραχηλικὴ βλέννη.

ψες μὲ στρόγγυλο πυθμένα, μήκους 1 cm καὶ διάμετρο 5 mm καὶ τέσσερες ἐπίπεδοι πλαστικοὶ σωλῆνες, μήκους 8cm. Στὴν ἀρχή, τοποθετοῦνται πάνω στὴν ἀντικειμενοφόρο πλάκα οἱ πλαστικὲς κάψες μὲ τὴ βοήθεια κολλητικῆς ταινίας διπλῆς ὄψης, πάχους 0,11 mm. Στὶς κάψες αὐτὲς θὰ τοποθετηθεῖ τὸ σπέρμα. Στὴ συνέχεια, τοποθετοῦνται πάνω στὴν ἀντικειμενοφόρο πλάκα καὶ παράλληλα πρὸς τὴ μικρὴ πλευρὰ της δύο παχύτερες λουρίδες ἀπὸ τὴν ἴδια κολλητικὴ ταινία, ἡ πρώτη 1cm ἀπὸ τὸ ἄνοιγμα τῶν πλαστικῶν καψῶν καὶ ἡ δεύτερη 1 cm ἀπὸ τὸ ἀντίθετο ἄκρο τῆς ἀντικειμενοφόρου πλάκας. Κατόπιν, τοποθετοῦνται πάνω σ' αὐτὲς τὶς λουρίδες καὶ παράλληλα πρὸς τὴ μεγάλη πλευρὰ τῆς ἀντικειμενοφόρου πλάκας οἱ τέσσερες ἐπίπεδοι πλαστικοὶ σωλῆνες. Οἱ σωλῆνες αὐτοὶ παρασκευάσθηκαν ἀπὸ διαφανὴ «μίνι» πλαστικὰ σωληνάρια ἀπὸ πολυβινυλικὴ ἀλκοόλη, μήκους 13,3 cm καὶ χωρητικότητας 0,25 ml, ποὺ χρησιμοποιοῦνται γιὰ τὴν παρασκευὴ καταψυγμένου σπέρματος. Ἕνα

τμῆμα 8 cm τοῦ σωληνάριου αὐτοῦ πιέζεται ἀνάμεσα σὲ δύο θερμὰ μεταλλικὰ πλακίδια, γιὰ νὰ ἀποκτήσει ἐπίπεδη ἐπιφάνεια κατὰ τέτοιο τρόπο, ὥστε νὰ ἀφήσει ἕνα τμῆμα 1 cm μὲ στρόγγυλη ἐπιφάνεια στὸ ἕνα ἄκρο του. Μὲ τὸν τρόπο αὐτὸ δημιουργοῦνται ἐπίπεδοι τριχοειδεῖς πλαστικοὶ σωλῆνες, ποὺ ὁ καθένας τους ἔχει χωρητικότητα 0,043 ± 0,001 ml. Τέλος, ἡ βαθμολογία τῆς ἀντικειμενοφόρου πλάκας σὲ κλίμακα ἑκατοστῶν γίνεται μὲ ἕνα ὑαλογραφικὸ μολύβι.

Ἐκτέλεση τοῦ τέστ

Τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἐκτελεῖται ὡς ἑξῆς: Στὴν ἀρχὴ ἀναρροφᾶται μέσα σὲ κάθε ἐπίπεδο τριχοειδὴ πλαστικὸ σωλήνα τραχηλικὴ βλέννη ἀγελάδας ποὺ βρίσκεται σὲ οἶστρο.

Γιὰ τὸ σκοπὸ αὐτό, ὁ πλαστικὸς τριχοειδής σωλήνας συνδέεται μὲ τὸ στρόγγυλο ἄκρο του μὲ μιὰ σύριγγα ποὺ φέρει σπειροειδὲς ἐλατήριο καὶ ἕνα περιστρεφόμενο κοχλία γιὰ τὴ μετακίνηση τοῦ ἐμβόλου τῆς σύριγγας. Στὴ συνέχεια, τὸ ἐπίπεδο ἄκρο τοῦ τριχοειδῆ πλαστικοῦ σωλήνα ἐμβαπτίζεται μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη, ποὺ ἔχει προηγουμένως τοποθετηθεῖ πάνω σὲ μιὰ ἀντικειμενοφόρο πλάκα καὶ μὲ περιστροφὴ τοῦ κοχλία ἀρχίζει ἡ ἀναρρόφηση τῆς τραχηλικῆς βλέννης μὲ ἀργὸ ρυθμό, γιὰ νὰ μὴ σχηματισθοῦν φυσαλίδες ἀέρα, ποὺ θὰ μποροῦσαν νὰ διακόψουν τὴ συνέχεια τῆς στήλης τῆς τραχηλικῆς βλέννης. Μόλις γεμίσει ὁ τριχοειδὴς σωλήνας, ἀποσυνδέεται ἀπὸ τὴ σύριγγα καὶ τὸ στρογγυλὸ ἄκρο του φράσσεται μὲ πλαστυλίνη. Ἡ τραχηλικὴ βλέννη ποὺ προεξέχει ἀπὸ τὸ ἄκρο τοῦ πλαστικοῦ σωλήνα, κόβεται μὲ ψαλίδι. Κατόπιν, ἀφοῦ μὲ μιὰ πιπέττα Pasteur ἔχει τοποθετηθεῖ σπέρμα στὶς πλαστικὲς κάψες, τὸ ἐλεύθερο ἄκρο τῶν τριχοειδῶν πλαστικῶν σωλήνων, ποὺ εἶναι γεμάτοι μὲ τραχηλικὴ βλέννη, ἐμβαπτίζεται μέσα στὸ σπέρμα. Ἡ συσκευή, ποὺ ἀποτελεῖται τώρα ἀπὸ τέσσερες ἐπίπεδους πλαστικοὺς τριχοειδεῖς σωλῆνες μὲ τραχηλικὴ βλέννη καὶ τέσσερες πλαστικὲς κάψες μὲ σπέρμα, ἐπωάζεται σὲ μιὰ καθορισμένη θερμοκρασία (συνήθως 37°C ἢ θερμοκρασία δωματίου). Ἡ ἀνάγνωση τοῦ τέστ γίνεται σὲ καθορισμένα χρονικὰ διαστήματα, χρησιμοποιώντας τὴν κλίμακα τῆς ἀντικειμενοφόρου πλάκας γιὰ νὰ διαπιστωθεῖ ὁ βαθμὸς τῆς διείσδυσης καὶ τῆς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴ στήλη τῆς τραχηλικῆς βλέννης. Καθόλη τὴ διάρκεια τοῦ τέστ ἡ ἀντικειμενοφόρος πλάκα βρίσκεται πάνω στὴ θερμαινόμενη πλάκα τοῦ μικροσκοπίου καὶ ἡ μικροσκοπικὴ ἐξέταση γίνεται στὴν ἀρχὴ μὲ τὴ μικρὴ μεγέθυνση (100X) καὶ μετὰ μὲ τὴ μεγάλη (400X).

Σὲ κάθε τέστ καταγράφεται ἡ ἀπόσταση σὲ ἑκατοστὰ ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ πιὸ προχωρημένα σπερματοζωάρια σὲ 5,10 καὶ 15 λεπτὰ μετὰ τὴν ἀρχικὴ ἐπαφὴ τοῦ σπέρματος καὶ τῆς τραχηλικῆς βλέννης. Κάθε τέστ ἐκτελεῖται εἰς διπλοῦν ἢ τριπλοῦν γιὰ νὰ ὑπολογισθεῖ ὁ μέσος ὅρος. Ἡ ὕπαρξη παθητικῆς μεταφορᾶς ἀκίνητων σπερματοζωαρίων, λόγω τῶν τριχοειδῶν δυνάμεων, μπορεῖ νὰ ἐλεγχθεῖ μὲ τὴ χρησιμοποίηση σπέρματος, τοῦ ὁποίου τὰ σπερματοζωάρια ἔχουν χάσει τὴν κινητικότητά τους μὲ θέρμανση (60°C γιὰ μιὰ ὥρα).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Μετακίνηση καὶ μέση ταχύτητα τῶν σπερματοζωαρίων ταύρου μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη

Μὲ τὴ μέθοδο, ποὺ περιγράφηκε παραπάνω, προσδιορίσθηκε σὲ 236 δείγματα τραχηλικῆς βλέννης ἀγελάδας ἡ ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια ταύρου καὶ ἀπὸ αὐτὴν ὑπολογίσθηκε ἡ μέση ταχύτητά τους.

Ἡ ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζγάρια σὲ 10 λεπτὰ καὶ θερμοκρασία 37°C ἦταν κατὰ μέσο δρο 3,5 ± 0,08 cm καὶ ἡ μέση ταχύτητά τους ἦταν 58,0 ± 1,25 μ/sec.

2. Παράγοντες ποὺ ἐπηρεάζουν τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων

Θερμοκρασία. Τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων ἐκτελέσθηκε εἰς τετραπλοῦν σὲ θερμοκρασία 22°, 30° καὶ 37°C μὲ τὴ βοήθεια θερμαινόμενης τράπεζας μικροσκοπίου, χρησιμοποιήθηκαν δὲ καὶ στὶς τρεῖς θερμοκρασίες τα ἴδια δείγματα τραχηλικῆς βλέννης καὶ σπέρματος. Συνολικὰ χρησιμοποιήθηκαν τριάντα δείγματα τραχηλικῆς βλέννης καὶ τὰ ἀποτελέσματα, ποὺ φαίνονται στὸν πίνακα 1Α, ἔδειξαν ὅτι ἡ μέση ταχύτητα τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.

Παράγοντες ποὺ ἐπηρεάζουν τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων

Παράγοντας	Ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε (cm/10 min)	Μέση ταχύτητα (μ/sec)
Α. Θερμοκρασία (0°C)		
22	1,1±0,13	18,3±2,17
30	2,6±0,18***	43,3±3,00***
37	3,7±0,15***	61,7±2,50***
Β. Χρόνος (min)		
5	1,6±0,07	53,3±2,33
10	3,3±0,17***	55,0±2,83
15	4,7±0,27***	52,2±3,00
Γ. Συντήρηση τῆς τραχηλικῆς βλέννης (ἡμέρες)		
0	4,2±0,16	70,0±2,67
10	3,6±0,17	60,0±2,83
20	3,9±0,14	65,0±2,33
30	3,8±0,14	63,3±2,33
Δ. Ἀραίωση τοῦ σπέρματος		
Ἀναραίωτο	4,1±0,04	68,3±0,67
Ἀραιωμένο 1:2	4,2±0,04	70,0±0,67
1:4	4,0±0,05	66,7±0,83
1:8	4,1±0,04	68,3±0,67
1:16	4,1±0,06	68,3±1,00
1:32	4,3±0,04	71,7±0,67

Οἱ παραπάνω τιμὲς εἶναι ὁ Μέσος Ὅρος ± Τυπικὸ Σφάλμα, ἀπὸ τριάντα ἐπαναλήψεις γιὰ κάθε παράγοντα.

*** P <0.001 (Σημαντικὴ διαφορὰ ἀπὸ τὶς τιμὲς στοὺς 22°C καὶ 5 min, ἀντίστοιχα).

ταύρου μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἦταν μεγαλύτερη στοὺς 37°C καὶ γι' αὐτὸ σ' ὅλους τοὺς μετέπειτα πειραματισμοὺς τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων ἔγινε στὴ θερμοκρασία αυτή.

Χρόνος. Σὲ τριάντα δείγματα τραχηλικῆς βλέννης ἐκτελέσθηκε τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων μὲ σπέρμα γόνιμων ταύρων. Ἡ ἐπώαση γινόταν σὲ 37°C γιὰ 15 λεπτὰ καὶ ἡ ἀπόσταση ποὺ διανυόταν ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια καταγραφόταν κάθε 5 λεπτά. Στὴ συνέχεια, ὑπολογίζονταν οἱ συντελεστὲς συμμεταβολῆς, θεωρώντας τὸ χρόνο ὡς ἀνεξάρτητη μεταβλητή. Οἱ μέσες τιμές ± τυπικὸ σφάλμα γιὰ τὴν ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια σὲ 5, 10 καὶ 15 λεπτὰ ἦταν 1,6±0,05, 3,3±0,17 καὶ 4,7±0,27 ἑκατοστά, ἀντίστοιχα (πίνακας 1Β).

Οἱ συντελεστὲς συμμεταβολῆς κυμάνθηκαν ἀπὸ 0,98 ὡς 1,00, πρᾶγμα ποὺ σημαίνει ὅτι ὁ ρυθμὸς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἦταν σταθερός. Ἡ κλίση τῆς γραμμῆς συμμεταβολῆς διέφερε ἀπὸ δεῖγμα σὲ δεῖγμα τραχηλικῆς βλέννης. Οἱ τιμὲς γιὰ τὴν ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια στὸ πρῶτο, δεύτερο καὶ τρίτο 5λεπτὸ ἦταν σχεδὸν οἱ ἴδιες καὶ γι' αὐτὸ ἡ γραμμὴ συμμεταβολῆς ἦταν σχεδὸν εὐθεία.

Συντήρηση τῆς τραχηλικῆς βλέννης. Ἡ ἐπίδραση τῆς συντήρησης τῆς τραχηλικῆς βλέννης πάνω στὸ τέστ διείσδυσης μελετήθηκε μὲ τὸν ἀκόλουθο τρόπο: Σὲ τριάντα δείγματα τραχηλικῆς βλέννης, ἀμέσως μετὰ τὴ συλλογή τους, χρησιμοποιήθηκε μικρὴ ποσότητα βλέννης γιὰ νὰ γίνει τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων. Ἡ ὑπόλοιπη ποσότητα τῆς τραχηλικῆς βλέννης μοιράσθηκε σὲ μικρὰ δείγματα, ποὺ διατηρήθηκαν μέσα σὲ μικρὰ πλαστικὰ σωληνάρια σὲ θερμοκρασία -30°C. Τὰ δείγματα αὐτὰ ἀποψύχθηκαν μετὰ ἀπὸ διάφορα χρονικὰ διαστήματα καὶ χρησιμοποιήθηκαν γιὰ τὸ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων. Γιὰ κάθε δεῖγμα τραχηλικῆς βλέννης χρησιμοποιήθηκε ὁ ἴδιος σπερματοδότης ταῦρος. Τὰ ἀποτελέσματα, ποὺ φαίνονται στὸν πίνακα 1Γ, ἔδειξαν ὅτι ἡ συντήρηση τῆς τραχηλικῆς βλέννης μέσα σὲ μικρὰ πλαστικὰ σωληνάρια σὲ -30°C γιὰ ἕνα μήνα δὲν ἀλλοίωσε τὸ ρυθμὸ μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων.

Πυκνότητα τοῦ σπέρματος. Τριάντα δείγματα τραχηλικῆς βλέννης καὶ τριάντα δείγματα σπέρματος μὲ πυκνότητα περίπου 10^9 σπερματοζωάρια/ml χρησιμοποιήθηκαν γιὰ τὸν ἔλεγχο αυτό. Στὴν ἀρχή, γιὰ καθένα ἀπὸ τὰ δείγματα τῆς τραχηλικῆς βλέννης ἐκτελέσθηκαν τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων μὲ ἀναραίωτο σπέρμα. Στὴ συνέχεια, τὸ σπέρμα ἀραιώθηκε 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 καὶ 1:32 μὲ ἀραιωτικὸ ποὺ περιεῖχε 2,42% Tris, 1,36% κιτρικὸ ὀξύ, 1% φρουκτόζη καὶ 20% κρόκο αὐγοῦ, pH 6,9 καὶ ἐκτελέσθηκαν τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων μὲ τὶς ἀραιώσεις αὐτὲς τοῦ σπέρματος, εἰς τετραπλοῦν. Τὰ ἀποτελέσματα, ποὺ φαίνονται στὸν πίνακα 1Δ, ἔδειξαν ὅτι ἡ ἀραίωση τοῦ σπέρματος ἀπὸ τὴν ἀρχικὴ πυκνότητα τῶν 10^9 σπερματοζωαρίων/ml μέχρι τὴν πυκνότητα τῶν $30X10^6$/ml δὲν ἐπηρέασε τὴ διείσδυση τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη.

3. Ἐπαναληψιμότητα τοῦ τέστ

Γιὰ νὰ ἐλεγχεῖ ἡ επαναληψιμότητα τοῦ τέστ, χρησιμοποιήθηκαν σαράντα ὀκτὼ διαφορετικὰ δείγματα τραχηλικῆς βλέννης. Σὲ κάθε δείγμα ἐκτελέσθηκαν πολλαπλὰ τεστ διείσδυσης (5,2±0,43) μὲ τὸ ἴδιο δεῖγμα σπέρματος καὶ καταγράφηκε ἡ ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη σὲ 10 λεπτὰ καὶ σὲ θερμοκρασία 37°C. Μὲ βάση τὶς τιμὲς ποὺ πάρθηκαν ὑπολογίσθηκε ὁ συντελεστὴς παραλλακτικότητας (100 X τυπικὴ ἀπόκλιση/μέσος δρος) γιὰ κάθε δεῖγμα τραχηλικῆς βλέννης χωριστὰ (Bancorft, 1957). Ὁ συντελεστὴς παραλλακτικότητας (9,3±0,87) κυμάνθηκε ἀπὸ 2,7 ὡς 21,9 καὶ ἦταν μικρότερος στὰ δείγματα ἐκεῖνα, ποὺ ὁ ρυθμὸς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων ἦταν μεγάλος (r=-0,77).

4. Διακύμανση τοῦ τέστ μεταξὺ τῶν δειγμάτων τῆς τραχηλικῆς βλέννης καὶ τῶν δειγμάτων τοῦ σπέρματος.

Σὲ καθένα ἀπὸ πενήντα δύο δείγματα τραχηλικῆς βλέννης ἐκτελέσθηκε τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων μὲ διαφορετικὰ δείγματα σπέρματος (5,0±1,40). Κάθε τέστ γινόταν εἰς τριπλοῦν καὶ ὑπολογιζόταν ὁ μέσος δρος. Ἡ ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια σὲ 10 λεπτὰ ἦταν κατὰ μέσο δρο 3,3±1,19 cm. Ἡ ἀνάλυση τῆς παραλλακτικότητας ἔδειξε ὅτι ὑπῆρχαν σημαντικὲς διαφορὲς ὄχι μόνο μεταξὺ τῶν δειγμάτων τῆς τραχηλικῆς βλέννης, ἀλλὰ καὶ μεταξὺ τῶν δειγμάτων τοῦ σπέρματος (P<0,001).

5. Ἀκρίβεια τοῦ τέστ

Γιὰ νὰ ἐλεγχθεῖ ἡ ἀκρίβεια τοῦ τέστ ποὺ περιγράφηκε παραπάνω, χρησιμοποιήθηκαν τριάντα ἓξ δείγματα τραχηλικῆς βλέννης. Σὲ κάθε δεῖγμα τραχηλικῆς βλέννης ἐκτελέσθηκαν συγχρόνως δύο τέστ, μὲ τὸ ἴδιο δεῖγμα σπέρματος, τὸ πρῶτο σύμφωνα μὲ τὴ μέθοδο ποὺ περιγράφηκε στὴν ἐργασία αὐτὴ καὶ τὸ δεύτερο σύμφωνα μὲ τὴ μέθοδο τοῦ Kremer (1965). Καὶ τὰ δύο τέστ ἔγιναν σὲ θερμοκρασία 37°C, εἰς διπλοῦν καὶ καταγράφηκε ἡ ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια σὲ 10 λεπτά, γιὰ νὰ ὑπολογισθεῖ ἡ μέση ταχύτητά τους.

Ἡ ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια σὲ 10 λεπτὰ καὶ ἡ μέση ταχύτητα τῶν σπερματοζωαρίων ἦταν στὴν παρούσα μέθοδο 3,85±0,18 cm καὶ 64,17±3,00 μ/sec καὶ στὴ μέθοδο τοῦ Kremer ἦταν 3,86±0,18 cm καὶ 64,33±3,00 μ/sec. Φαίνεται καθαρὰ ὅτι τὸ νέο τέστ ἔδωσε τὶς ἴδιες τιμὲς μὲ τὴν κλασσικὴ μέθοδο τοῦ Kremer.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπὸς τῆς παρούσας ἐργασίας ἦταν νὰ ἀναπτύξει μιὰ ἁπλή, ἀκριβὴ καὶ ἀξιόπιστη μέθοδο γιὰ τὴν ἐκτίμηση τῆς in vitro διείσδυσης καὶ μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἀγελάδων ποὺ βρίσκονται σὲ οἶστρο. Ἀφορᾶ μόνο τὰ φυσιολογικὰ σπερματοζωάρια. Ἡ συμπεριφορὰ

τῶν παθολογικῶν σπερματοζωαρίων ἦταν πέρα ἀπὸ τὸ στόχο τῆς παροῦσας διερεύνησης.

Τὸ τέστ ποὺ περιγράφεται στὴν ἐργασία αὐτὴ ἐνσωματώνει ἀρκετὰ χρήσιμα χαρακτηριστικὰ τῶν μεθόδων τῆς «καλυπτρίδας» καὶ τοῦ «τριχοειδῆ σωλήνα». Ἐπιπλέον, εἶναι ἁπλό, γρήγορο καὶ φθηνὸ στὴν ἐκτέλεση καὶ δίνει ἐπαναλήψιμα ἀποτελέσματα. Συγχρόνως εἶναι ἀπαλλαγμένο ἀπὸ μερικὰ μειονεκτήματα τῶν παραπάνω μεθόδων.

Ἡ φυσικὴ κατάσταση τῆς τραχηλικῆς βλέννης, ὅσον ἀφορᾶ τὴν ἐνδομικκυλιακὴ κατασκευὴ καὶ τὰ μεταξὺ τῶν μικκυλίων διαστήματα, ποὺ εἶναι γεμάτα μὲ τὰ χαμηλοῦ ἰξώδους συστατικά της, διατηρεῖται ἀναλλοίωτη μὲ τὴν ἀναρρόφηση τῆς βλέννης μέσα στὸν τριχοειδὴ χῶρο τῶν ἐπίπεδων πλαστικῶν σωλήνων. Ἡ ποσότητα τῆς τραχηλικῆς βλέννης ποὺ ἀπαιτεῖται γιὰ ἕνα τέστ εἶναι σχετικὰ πολὺ μικρὴ (0,043±0,001 ml). Τὸ πάχος καὶ τὸ μῆκος τῆς στήλης τῆς τραχηλικῆς βλέννης μέσα στὸν τριχοειδὴ χῶρο τῶν πλαστικῶν σωλήνων ἐπιτρέπει τὴν πλήρη παρακολούθηση τῶν μετακινούμενων σπερματοζωαρίων. Ἡ ἐγκάρσια τομὴ τῆς στήλης τῆς τραχηλικῆς βλέννης διατηρεῖται σταθερὴ καὶ ἡ ὕπαρξη μιᾶς λεπτῆς καὶ μὲ ἀρκετὸ μῆκος στήλης τραχηλικῆς βλέννης ἐπιτρέπει καλύτερη ἐκτίμηση τοῦ ρυθμοῦ μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων. Ἡ ἑστίαση πάνω στὰ σπερματοζωάρια μέσα στὸν τριχοειδὴ χῶρο γίνεται εὔκολα, γιατὶ τὸ τοίχωμα τοῦ πλαστικοῦ σωλήνα εἶναι ἐπίπεδο καὶ τὸ πάχος τῆς στήλης τῆς βλέννης μέσα σ' αὐτὸν δὲν εἶναι ἐξαιρετικὰ μεγάλο. Ὡς ἐκτούτου, ἡ παρακολούθηση τῆς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων δὲν περιορίζεται μόνο στὴν περιφερικὴ τραχηλικὴ βλέννη, ποὺ βρίσκεται κοντὰ στὸ τοίχωμα τοῦ σωλήνα. Μὲ τὴ χρησιμοποίηση τῆς μεγάλης μεγέθυνσης μπορεῖ νὰ γίνει ἀκριβὴς καταμέτρηση τοῦ ἀριθμοῦ τῶν σπερματοζωαρίων καὶ νὰ προσδιορισθεῖ εὔκολα ἡ μορφολογία καὶ τὸ εἶδος τῆς κίνησης τῶν σπερματοζωαρίων. Ἐπιπλέον, στὸ τέλος κάθε τέστ μπορεῖ νὰ κοπεῖ ὁ πλαστικὸς σωλήνας σὲ διάφορα τμήματα, καθιστώντας ἔτσι δυνατὴ τὴ σύγκριση τῶν διαφόρων παραμέτρων τοῦ τέστ στὶς διάφορες μοίρες τῆς στήλης τῆς τραχηλικῆς βλέννης.Τέλος, τὰ ἀποτελέσματα εἶναι ποσοτικὰ καὶ μποροῦν νὰ ὑποβληθοῦν σὲ στατιστικὴ ἀνάλυση.

Ἡ μέση ταχύτητα τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ ταύρου μέσα στὸ σπερματικὸ πλάσμα ἢ σὲ φυσιολογικὸ ὀρὸ (110-114 μ/sec) εἶναι σημαντικὰ μεγαλύτερη ἀπ' ὅ,τι στὴν τραχηλικὴ βλέννη τῆς ἀγελάδας (Rothchild, 1953· Baker et al., 1957· Moberg, 1959· Tampion & Gibbons, 1962, 1963). Στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἡ προώθηση τῶν σπερματοζωαρίων εἶναι βραδύτερη, ἐπειδὴ ἡ ἀντίσταση ποὺ συναντοῦν ἐκ μέρους τῆς ἰξώδους βλέννης εἶναι μεγαλύτερη. Ἡ τραχηλικὴ βλέννη εἶναι μιὰ ἰδιόμορφη ἰξώδης καὶ ἐλαστικὴ ἡμιστερεὰ πηκτή, ποὺ ἀποτελεῖται ἀπὸ ἕνα πυκνὸ δίκτυο γλυκοπρωτεϊνικῶν νημάτων, τὰ ὁποῖα εἶναι ἔτσι διευθετημένα, ὥστε ἕνα σπερματοζωάριο νὰ μὴ μπορεῖ νὰ κινεῖται σὲ τυχαῖες κατευθύνσεις, ὅπως συμβαίνει σ' ἕνα ὑγρὸ διάλυμα, ἀλλὰ νὰ εἶναι ὑποχρεωμένο νὰ ἀνοίγει τὸ δρόμο του κατὰ μῆκος τῶν προκαθορισμένων ἴσιων καὶ στενῶν καναλιῶν, ποὺ σχηματίζουν τὰ μικκύλια τῶν γλυκοπρωτεϊνῶν.

Οἱ Tampion καὶ Gibbons (1962) βρῆκαν ὅτι ἡ ταχύτητα μὲ τὴν ὁποία με-

τακινοῦνται τὰ σπερματοζωάρια τοῦ ταύρου μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη τῆς ἀγελάδας εἶναι κατὰ μέσο ὅρο 55,6 μ/sec, μὲ ἕνα εὖρος 37, 6-70, 5, ἐνῶ ὁ Veser (1969) ἀνέφερε ἕνα εὖρος 26, 7-70, 8 μ/sec. Τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἐργασίας αὐτῆς (58,0±1,25 μ/sec) βρίσκονται σὲ συμφωνία μὲ τὶς παραπάνω τιμές.

Κάτω ἀπὸ τὶς συνθῆκες ποὺ περιγράφονται σ' αὐτὴν τὴν ἐργασία, ἡ μέση ταχύτητα τῶν σπερματοζωαρίων στὸ πρῶτο, δεύτερο καὶ τρίτο 5λεπτο ἦταν σχεδὸν ἡ ἴδια, αὐτὸ δὲ φαίνεται καὶ ἀπὸ τὸ γεγονὸς ὅτι ἡ καμπύλη συμμεταβολῆς τοῦ ρυθμοῦ μετακίνησης καὶ τοῦ χρόνου ἦταν σχεδὸν εὐθύγραμμη.

Ὁ συντελεστὴς παραλλακτικότητας τοῦ τέστ σ' ἕνα δεῖγμα τραχηλικῆς βλέννης πιθανὸν νὰ ἀντικατόπτριζε τὴ διακύμανση τῆς ὁμοιογένειας τῆς τραχηλικῆς βλέννης. Ὁ συντελεστὴς αὐτὸς ἔτεινε νὰ εἶναι μεγαλύτερος, ὅταν ὁ ρυθμὸς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων ἦταν χαμηλός. Ἐξάλλου, κατὰ κανόνα, ὁ μεγαλύτερος ρυθμὸς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων ἐμφανίζεται σὲ δείγματα τραχηλικῆς βλέννης ποὺ συλλέγονται κατὰ τὴ διάρκεια τῆς φάσης τοῦ ὠοθυλακίου καὶ τὰ ὁποία εἶναι περισσότερο ὁμοιογενὴ ἀπ' ὅ,τι στὰ ἄλλα στάδια τοῦ ὠοθηκικοῦ κύκλου (Odeblad, 1969).

Τὸ γεγονὸς ὅτι παρατηρήθηκαν σημαντικὲς διαφορὲς στὶς τιμὲς τοῦ τέστ μεταξὺ τῶν δειγμάτων τῆς τραχηλικῆς βλέννης καὶ μεταξὺ τῶν δειγμάτων τοῦ σπέρματος ἐνισχύει τὴν ἄποψη ὅτι ἡ ἱκανότητα τῶν σπερματοζωαρίων νὰ διεισδύουν μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἐξαρτᾶται ὄχι μόνο ἀπὸ τὴν ποιότητα τῆς τραχηλικῆς βλέννης, ἀλλὰ καὶ ἀπὸ τὴν ποιότητα τοῦ σπέρματος.

Ἡ ἀκρίβεια τῆς μεθόδου ποὺ χρησιμοποιήθηκε στὴν παρούσα ἐργασία ἐλέγχθηκε μὲ τὴν κλασσικὴ μέθοδο τοῦ Kremer (1965) καὶ βρέθηκε ὅτι εἶναι πολὺ μεγάλη.

Τὸ γεγονὸς ὅτι οἱ ἰδιότητες τῆς τραχηλικῆς βλέννης δὲν μεταβλήθηκαν μετὰ ἀπὸ συντήρησή της σὲ -30°C μέσα σὲ μικροὺς πλαστικοὺς σωλῆνες, εἶναι πολὺ σπουδαῖο, γιατὶ καθιστᾶ δυνατὴ τὴν ἐκτέλεση τοῦ in vitro τέστ σ' ὁποιοδήποτε χρόνο καὶ τὴ μελέτη τῶν ἡμερήσιων μεταβολῶν τῆς τραχηλικῆς βλέννης. Οἱ κυκλικὲς μεταβολὲς τῆς τραχηλικῆς βλέννης μποροῦν νὰ μελετηθοῦν εὔκολα μὲ τὴ χρησιμοποίηση δειγμάτων ποὺ συλλέγονται κάθε ἡμέρα γιὰ μιὰ ἢ δύο ἑβδομάδες καὶ νὰ ἐξετάζωνται ἀργότερα ὅλα μαζὶ συγχρόνως.

Ἀπὸ τὰ πειράματα ποὺ ἔγιναν στὴν ἐργασία αὐτὴ βρέθηκε ὅτι τὰ διάφορα δείγματα σπέρματος ἔδειξαν διαφορετικοὺς ρυθμοὺς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων στὸ ἴδιο δεῖγμα τραχηλικῆς βλέννης. Οἱ διαφορὲς αὐτὲς δὲν μπορεῖ νὰ ὀφείλονται στὴν πυκνότητα τοῦ σπέρματος, γιατὶ ἀκόμα καὶ ἀραίωση τοῦ σπέρματος σὲ $30X10^6$/ml δὲν ἐπηρέασε τὴν διείσδυση καὶ τὴν μετακίνηση τῶν σπερματοζωαρίων μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περιγράφεται ἕνα ἁπλὸ καὶ γρήγορο στὴν ἐκτέλεση in vitro τέστ γιὰ τὴν ἐκτίμηση τοῦ ρυθμοῦ μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ ταύρου μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἀγελάδας ποὺ βρίσκεται σὲ οἶστρο. Ἡ μέθοδος αὐτή, ποὺ παρουσιάζει μερικὰ ἀπὸ τὰ κυριότερα πλεονεκτήματα τῶν μεθόδων τῆς

«καλυπτρίδας» καὶ τοῦ «τριχοειδῆ σωλήνα», μετρᾶ μὲ μεγάλη ἐπαναληψιμότητα τὶς ἀκόλουθες παραμέτρους: ἀπόσταση ποὺ διανύθηκε ἀπὸ τὰ σπερματοζωάρια, πυκνότητα τῶν σπερματοζωαρίων ποὺ διείσδυσαν μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη, εἶδος καὶ διάρκεια κινητικότητας τῶν σπερματοζωαρίων καὶ συγχρόνως ἐπιτρέπει τὴ μορφολογικὴ ἐξέταση τῶν σπερματοζωαρίων.

Χρησιμοποιώντας τὴ μέθοδο αὐτὴ διαπιστώθηκε ὅτι στοὺς 37°C τὰ σπερματοζωάρια τοῦ ταύρου μετακινοῦνται μέσα στὴν τραχηλικὴ βλέννη ἀγελάδας ποὺ βρίσκεται σὲ οἶστρο μὲ σταθερὸ ρυθμὸ καὶ μὲ μία μέση ταχύτητα 58,0±1,25 μ/sec. Ὁ ρυθμὸς μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων στοὺς 30°C καὶ ἀκόμα περισσότερο στοὺς 37°C, ἦταν μεγαλύτερος ἀπ' ὅτι στοὺς 22°C. Ὑπῆρχε μιὰ μεγάλη συσχέτιση μεταξὺ τῶν ταχυτήτων τοῦ πρώτου, δεύτερου καὶ τρίτου 5λέπτου. Ὁ συντελεστὴς παραλλακτικότητας κυμάνθηκε ἀπὸ 2,7 ὡς 21,9, ἦταν δὲ μεγαλύτερος στὰ δείγματα ἐκεῖνα τῆς τραχηλικῆς βλέννης στὰ ὁποῖα ὁ ρυθμὸς διείσδυσης καὶ μετακίνησης τῶν σπερματοζωαρίων ἦταν χαμηλός. Σημαντικὲς διαφορὲς παρατηρήθηκαν ὄχι μόνο μεταξὺ τῶν δειγμάτων τῆς τραχηλικῆς βλέννης, ἀλλὰ καὶ μεταξὺ τῶν δειγμάτων τοῦ σπέρματος. Ἡ κατάψυξη καὶ ἡ συντήρηση τῆς τραχηλικῆς βλέννης στοὺς -30°C γιὰ ἕνα τουλάχιστον μῆνα δὲν ἀλλοίωσε τὰ ἀποτελέσματα τοῦ τέστ διείσδυσης τῶν σπερματοζωαρίων. Τέλος ἀραίωση τοῦ σπέρματος μὲ καλὴ κινητικότητα μέχρι καὶ $30X10^6$/ml δὲν ἐπηρέασε τὰ ἀποτελέσματα τοῦ τέστ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bancorft, H., (1957). Introduction to Biostatistics, Hoeber-Harper, New York.
2. Baker, F.N., Cragle, R.G., Salisbury, G.W and Vandemark, N.L., (1957). Spermatozoan velocities in vitro. Fertil. Steril. 8: 149-155.
3. Beck, K.J., (1971). Cervikale Factoren als Ursache der Sterilität. Gynekologia (Basel) 33: 141-147.
4. Berner, D. and Krell, L., (1970). Der in vitro Penetrationtest, eine zusätzliche Untersuchungsmethode in der Fertilitätsdiagnostik. Derm. Mschr. 156: 46-51.
5. Botella-Llusia, J., (1956). Measurment of linear progression of the human spermatozoa as an index of male fertility. Int. J. Fertil. 1: 113-130.
6. Carlborg, L., (1969). Determination of sperm migration rate in small samples of cervical mucus. Acta Endocr. Copench. 62: 732-746.
7. Guard, H.R., (1960). New technic for sperm-mucus penetration tests using a hemocytometer. Fert. Steril. 11: 392-398.
8. Hagen, H., (1968). Zur Verbesserung der Diagnostic bei fuctioneller Sterilitaät durch einen Sperma-Aszensiontest. Z. Gynaek. 90: 1181-1184.
9. Kesserü, E. and Larrañaga, A., (1971). In vitro sperm migration in the human cervical mucus with different contraceptive methods. Contraception, 3: 195-208.

10. Kremer, J., (1965). A simple sperm penetration test. Inter. J. Fertil. 10: 209-215.
11. Kurzrok, R. and Miller, E.G., (1928). Biochemical studies of human semen and its relationship to mucus of the cervix uteri. Amer. J. Obstet. Gynec., 15: 56-72.
12. Kurzrok. R. and Miller, E.G., (1932). Biochemical studies of human semen. III. Factors affecting migration of sperm through the cervix. Amer. J. Obstet. Gyn., 24: 19.
13. Lamar, J., Shettles, L. and Delfs, E., (1940). Cyclic penetrability of human cervical mucus to spermatozoa in vitro. Amer. J. Physiol, 129: 234-241.
14. Møberg, R., (1969). Changes in cervical mucus smears from ovariectomized heifers treated with sexual hormones. XVIth Int. Vet. Congr., Madrid, Bd. 11: 937-938.
15. Moghissi, K.S., (1972). The function of the cervix in fertility. Fertil. Steril., 23: 295-306.
16. Odeblad, E., (1969). Types of human cervical mucus secrition. Acta Europ. Fertil. 1: 99-116.
17. Reichman, J., Insler, V. and Serr, D., (1973). A modified in vitro spermatozoa penetration test. Int. J. Fertil, 18: 232-240.
18. Rothschild, L., (1953). A new method of measuring sperm speeds. Nature, 171: 512-513.
19. Schwartz, R. and Zinnser, H.H., (1955). Some factors modifying sperm progression. Fertil. Steril., 6: 450-458.
20. Tampion, D. and Gibbons, R. A., (1962). Swimming rate of bull sperm. Nature, 194: 695.
21. Tampion, D. and Gibbons, R.A., (1963). Swimming rate of bull spermatozoa in various media and the effect of dilution. J. Reprod. Fertil, 5: 259-275.
22. Veser, A., (1969). Uber physikalische, chemische und biologische Eigenschaften der Zervikalsekrete von Rindern, Vet. med. Diss., München.

ΔΕΛΤΙΟΝ ΕΛΛ. ΚΤΗΝ. ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ, 1983, Τ. 34, τ. 3

ΤΟ ΠΡΟΒΑΤΟ ΤΗΣ ΚΑΡΥΣΤΟΥ

Λ. ΑΝΑΓΝΩΣΤΟΥ*

Σκοπὸς τῆς μελέτης αὐτῆς εἶναι ἡ περιγραφὴ μιᾶς φυλῆς προβάτων ποὺ ἐκτρέφεται στὸ νότιο τμῆμα τῆς ἐπαρχίας Καρυστίας, συγκεκριμένα σὲ 24 χωριὰ γύρω ἀπὸ τὴν Κάρυστο, καὶ ἀριθμεῖ 55.000 περίπου πληθυσμό.

* Δ/νση Κτην/κῆς Εὐβοίας.

Μορφολογικὰ χαρακτηριστικά: Εἶναι πρόβατο μικρόσωμο ποὺ διακρίνεται γιὰ τὴν ἀνθεκτικότητά του ἔναντι τῶν καιρικῶν συνθηκῶν καὶ τοῦ περιβάλλοντος. Ἀνήκει στὸν τύπο τοῦ ὀρεινοῦ προβάτου εἶναι μακρύουρο καὶ ἀναμικτόμαλλο. Κεφαλὴ μικρὴ προσηρμοσμένη στὸ σῶμα του.

Οἱ κριοὶ φέρουν ἀνεπτυγμένα καὶ ἰσχυρὰ ἑλικοειδὴ κέρατα καὶ ἐλάχιστα εἶναι μὴ κερασφόρα. Οἱ προβατίνες σὲ ποσοστὸ 15% περίπου φέρουν κέρατα (κρῦτες) κατευθυνόμενα πρὸς τὰ ἐμπρός. Τὰ αὐτιὰ εἶναι μικρὰ καὶ φέρονται πρὸς τὰ πλάγια καὶ ὀριζοντια. Ὑπάρχει καὶ μικρὸς ἀριθμὸς χωρὶς αὐτιὰ (τσοῦλα). Τὸ ἐπιρρίνιο εἰς μὲν τοὺς κριοὺς εἶναι ἐλαφρὰ κυρτό, εἰς δὲ τὶς προβατίνες εὐθύ. Ὁ τράχηλος, εἶναι βραχὺς καὶ δὲν καλύπτεται ἀπὸ ἀνεπτυγμένες μυϊκὲς μάζες. Ἡ Ράχη στενὴ καὶ ἄσαρκο στῆθος, στενὸ μὲ ὕψος ἀκρωμίου 0,56-0,58 στὶς προβατίνες, 0,60-0,62 εἰς τοὺς κριούς, ἰσχία ἐπικλινῆ, μαστὸς σφαιρικός.

Χρωματισμός: Χρωματισμὸς λευκὸς μὲ πρόσωψη ἐρυθρὰ καστανὴ ἀμφίπλευρη (μπούτσικα) ἢ μὲ στίγματα ἐρυθρό-κίτρινα διάσπαρτα σὲ ὅλη τὴν πρόσωψη (κάτσινα) ἢ καὶ ὁλόκληρη ἡ κεφαλὴ ἐρυθρή-καστανὴ (κοκκίνικα). Ἐπεκτίνεται ὁ ἴδιος χρωματισμὸς στὰ ἄκρα καὶ κοιλιὰ τὰ ὁποῖα εἶναι γυμνὰ ἐρίου καὶ στὶς τρεῖς περιπτώσεις.

Ἀποδόσεις: Ὁ τοκετὸς γίνεται κατὰ τοὺς μῆνες Νοέμβριο-Δεκέμβριο μὲ ἕνα ἐπὶ τὸ πλεῖστον ἔμβρυο τὸ ὁποῖο ζυγίζει 2-2,5 χιλγρ. κατὰ τη γέννησή του. Σὲ ἡλικία 50 περίπου ἡμερῶν οἱ ἀμνοὶ σφάζονται μὲ μέσο βάρος κρέατος

6 χιλγρ. ἢ ἀπογαλακτίζονται πρὸς πάχυνση, ὁπότε καὶ σφάζονται σὲ ἡλικία 7-8 μηνῶν μέ μέσο βάρος κρέατος 12-14 χιλγρ.

Ἀπὸ σφάγια προβάτων ζυγισθέντα στὰ Δημ. Σφαγεῖα Χαλκίδος τὸ μέσο βάρος σὲ κρέας κυμαίνεται ἀπὸ 16 ἕως 19 χιλγρ., ἐνῶ στοὺς κριοὺς 20 ἕως 24 χιλγρ. Ἡ παραγωγὴ ἐρίου φθάνει περίπου τὸ ἕνα χιλγρ. Τὸ πρόβατο τῆς Καρύστου ἐκτρέφεται περισσότερο γιὰ τὴ γαλακτοπαραγωγὴ ποὺ ἀνέρχεται ἀπὸ 70-80 χιλγρ. σὲ κάθε ἀλμεκτικὴ περίοδο.

Ἐκτροφές: Οἱ ἐκτροφὲς εἶναι ποιμενικῆς μορφῆς καὶ ἀριθμοῦν ἀπὸ 30 ἕως 1000 κεφαλὲς, μὲ μέσο ὅρο περὶ τὶς ἑκατὸ κεφαλές.