



**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TESTİKÜLER İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI OLAN
RATLARDA PRP KULLANIMININ SPERM
FONKSİYONLARINA ETKİSİNİN İN VİTRO FERTİLİZASYON
(IVF) İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. BURAK UYSAL

UZMANLIK TEZİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

PROF. DR. OSMAN KÖSE

2023-SAKARYA

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**TESTİKÜLER İSKEMİ-REPERFÜZYON HASARI OLAN
RATLARDA PRP KULLANIMININ SPERM
FONKSİYONLARINA ETKİSİNİN İN VİTRO FERTİLİZASYON
(IVF) İLE DEĞERLENDİRİLMESİ**

DR. BURAK UYSAL

UZMANLIK TEZİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

PROF. DR. OSMAN KÖSE

2023-SAKARYA

BEYAN

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

*Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 01/06/2022 tarih ve 33 sayılı etik kurul onayı alınarak hazırlanmıştır.

24/08/2023

Burak UYSAL

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca fikir, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, gerek mesleki gerekse aktardıkları hayat tecrübeleriyle en iyi şekilde yetiştirilmem için yol gösteren, Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri sayın hocalarım Prof. Dr. Hasan Salih SAĞLAM'a ve Prof. Dr. Ahmet GÖKÇE'ye; zorlu asistanlık sürecinde şefkatini ve desteklerini esirgemeyen tez danışmanım ve kıymetli hocam Prof. Dr. Osman KÖSE'ye, Prof. Dr. Fikret HALİS'e, Doç. Dr. Hüseyin AYDEMİR'e, Doç. Dr. Salih BUDAK'a; mesleki becerilerimin gelişmesinde ve sosyal yaşamda desteğini esirgemeyen değerli ağabeyim, hocam Doç. Dr. Hacı İbrahim ÇİMEN'e; hem uzmanım hem de kıdemlim olarak birlikte çalışma fırsatı bulduğum, dostluklarını her daim hissettiğim Op. Dr. Yavuz Tarık ATİK ve Op. Dr. Deniz GÜL'e; arkadaşlığını ve iyi niyetini her koşulda gösteren kıdemlim Op. Dr. Anıl ERDİK'e, Op. Dr. Recep Burak DEĞİRMEN TEPE'ye; bu yolculuğu keyifli hale getiren, zorluklara birlikte göğüs gerdiğimiz şuan bazıları uzman olan tüm asistan arkadaşlarıma; kliniğimiz hemşire, sekreter ve personeline; tez sürecimde göstermiş olduğu büyük katkılardan dolayı Doç. Dr. Özcan BUDAK'a ve Prof. Dr. Mehmet Sühha BOSTANCI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, hayatımın hiçbir anında koşulsuz desteklerini esirgemeyen, sevgilerini her zaman hissettiğim annem, babam ve kardeşlerime; güler yüzü, sabrı ve sonsuz sevgisiyle bana yoldaşlık eden sevgili eşim Handan UYSAL'a, varlığıyla hayatımı güzelleştiren ve ona değer katan biricik kızım Bilge'ye sonsuz teşekkür ederim.

Burak Uysal

Sakarya, 24 Ağustos 2023

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER.....	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
TABLO LİSTESİ.....	ix
RESİM LİSTESİ	x
ÖZET.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Testis	4
2.1.1. Embriyolojisi.....	4
2.1.2. Anatomisi	7
2.1.3. Testis histolojisi ve spermiyogenez	11
2.2. Testis Torsiyonu	15
2.2.1. Epidemiyoloji.....	16
2.2.2. Sınıflandırma.....	17
2.2.3. Tanı	19
2.2.4. Tedavi.....	20
2.3. İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller.....	22
2.3.1. İskemi ve Hipoksi	22
2.3.2. İskemi/Reperfüzyon Hasarı.....	23
2.3.3. Oksidatif Stres	23
2.3.4. Serbest Radikaller	24

2.3.5.	Antioksidanlar	26
2.4.	Plateletten Zengin Plazma	27
2.4.1.	PRP içeriği ve etki mekanizmaları	28
2.4.2.	PRP hazırlama yöntemleri.....	30
2.4.3.	PRP kullanım alanları	31
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1.	Deney Hayvanlarının Temini, Bakımı ve Deney Grupları.....	32
3.1.1.	Deney hayvanlarının temin edilmesi.....	32
3.1.2.	Deney hayvanları ve bakım.....	32
3.1.3.	Deney grupları.....	32
3.2.	Anestezi	33
3.3.	PRP Hazırlanışı ve Platelet Konsantrasyonu.....	33
3.4.	Deney Modeli	35
3.4.1.	Cerrahi işlem	35
3.4.2.	Kontrollü overyan hiperstimülasyon ve oosit toplanması.....	38
3.5.	İn-Vitro Fertilizasyon (İVF) Protokolü	40
3.5.1.	Erkek ratlardan sperm toplanması.....	40
3.5.2.	Sperm kapasitasyonu.....	40
3.5.3.	İnseminasyon	41
3.5.4.	Zigot yıkama ve embriyo kültürü.....	41
3.5.5.	Fertilizasyon ve kapasitasyon medyumları	42
3.6.	Histopatolojik İnceleme	42
3.6.1.	Sperm parametreleri	42
3.6.2.	Testislerin doku takibi.....	43
3.6.3.	Testislerden kesit alınması ve değerlendirilmesi	43
3.7.	İstatistiksel Analiz	45

4. BULGULAR.....	46
4.1. Gros Bulgular	46
4.2. Histopatolojik Bulgular	47
4.3. Semen Analizi Sonuçları	48
4.4. İVF Sonuçları	52
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	54
6. KAYNAKLAR	60
7. EKLER.....	74
EK 1	74
ÖZGEÇMİŞ	75

KISALTMA VE SİMGELER

ACD-A	: Antikogulan sitrat dekstroz fosfat
AMH	: Anti-Müllerian hormon
ATP	: Adenozin trifosfat
BSA	: Sığır serum albumini
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FGF	: Temel fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
g	: Gram
GSH	: Glutasyon
HTF	: İnsan tubal sıvısı
İGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
İVF	: İn-vitro fertilizasyon
ip	: İntraperitoneal
KOH	: Kontrollü overyan stimülasyon
LH	: Lüteinize edici hormon
MDA	: Malondialdehit
ml	: Mililitre
NO	: Nitrik oksit
OSI	: Oksidatif stres indeksi
PBS	: Fosfat tamponlu salin solüsyonu
PDE-5	: Fosfodiesteraz 5
PPP	: Trombositten fakir plazma
PRP	: Trombositten zengin plazma
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SOR	: Serbest oksijen radikali
SR	: Seks belirleyici gen
SSC	: Spermatogonyal kök hücre
TDF	: Testis belirleyici faktör

TAS	: Toplam antioksidan durum
TGF-β	: Dönüştürücü büyüme faktörü beta
TWIST	: İskemi ve torsiyon şüphesi için testiküler çalışma grubu
TOS	: Toplam oksidan durum
TT	: Testis torsiyonu
VEGF	: Vasküler endotelyal büyüme faktörü
μl	: Mikrolitre



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Genital ve gonadal çıkıntının şematik gösterimi	4
Şekil 2.2. Primitif seks kordonlarının oluşumu.....	5
Şekil 3.1. İkinci santrifüj sonrası elde edilen PRP konsantrasyonlarının şematik gösterimi.....	35
Şekil 4.1. Grupların sperm konsantrasyonları.....	49
Şekil 4.2. Hareketli sperm yüzdelerinin şematik gösterimi	50
Şekil 4.3. Morfoloji sonuçlarının şematik gösterimi.....	51



TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri	24
Tablo 2.2. Reaktif nitrojen türleri	25
Tablo 2.3. Serbest radikallerin eksojen ve endojen kaynakları.....	25
Tablo 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması	27
Tablo 3.1. Fertilizasyon ve kapasitasyon için kullanılan solüsyonların içeriği	42
Tablo 3.2 Hematoksilen- Eozin boyama protokolü	44
Tablo 3.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skorlaması.....	45
Tablo 4.1. Grupların “Testis Ağırlığı” açısından karşılaştırma sonuçları.....	46
Tablo 4.2. Grupların “Johnsen testiküler biyopsi skoru” açısından karşılaştırma sonuçları	48
Tablo 4.3. Grupların “Sperm Konsantrasyonu” açısından karşılaştırması	49
Tablo 4.4. Grupların semen parametrelerinin “Hareketli Sperm Yüzdesi” açısından karşılaştırılması	50
Tablo 4.5. Semen parametrelerinin “Morfoloji” açısından karşılaştırılması	51
Tablo 4.6. Grupların “Fertilize Oosit Sayısı” açısından karşılaştırılması.....	53
Tablo 4.7. Grupların “Bölünen Oosit Sayısı (2. gün embriyo sayıları)” açısından karşılaştırılması	53

RESİM LİSTESİ

Resim 3.1. PRP hazırlığı için kullanılan ticari kit.....	34
Resim 3.2. Santrifüj cihazı.....	35
Resim 3.3. Anestezi altına alınan ratların cerrahi işlem için hazırlanışı.....	36
Resim 3.4. Sağ testisin torsiyone edildikten sonra detorsiyon işlemi amacıyla skrotumun yeniden açılması.....	37
Resim 3.5. Korbondiyoksit kontrollü inkübatör	41
Resim 4.1. Seminifer tübüllerin histolojik yapısı	47
Resim 4.2. Gruplara ait ikinci gün embriyo görüntüleri	52

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Testis torsiyonu ani gelişen, tanı aldığında acil müdahale edilmesi gereken ürolojinin gerçek acillerindendir. Zamanında yapılan detorsiyon tedavise rağmen testiste iskemi/reperfüzyon (İ/R) hasarı meydana gelmektedir. Son yıllarda İ/R hasarında plateletten zengin plazma (PRP) ile yapılan çalışmalar umut vadedicidir. Çalışmamızın amacı PRP'nin, testiküler İ/R hasarında sperm fonksiyonlarına etkisini in vitro olarak değerlendirmektir.

YÖNTEM: 12 haftalık 50 adet Wistar Albino erkek sıçan; randomize şekilde kontrol (Sham), Sham+PRP uygulaması (Sham+PRP), iskemi (İ), 4 saatlik iskemi sonrası PRP uygulanması (İ+PRP), torsiyon/detorsiyon (İ/R) ve torsiyon/detorsiyon sonrası PRP uygulanması (İ/R+PRP) gruplarına ayrıldı. PRP hazırlığı için 2 erkek, oosit temini içinse 12 adet dişi sıçan kullanıldı. Torsiyon sağ testise 720° derece uygulandı. 4 saatlik torsiyon süresinden sonra intratestiküler 20 µl PRP enjeksiyonu yapıldı. 28 gün sonra tüm sıçanlar kurban edilerek sperm örnekleri toplandı ve testisler histopatolojik incelemeye alındı. Kontrollü overyan stimülasyon ve östrus senkronizasyonu yapılan dişi ratlardan oosit toplanarak inseminasyonun ardından kültürize edildi. 5 güne kadar kültürize edilen örnekler, fertilize oosit sayısı ve bölünmüş oosit sayıları açısından incelendi.

BULGULAR: Testis ağırlığında en belirgin azalma İ ve İ/R gruplarındaydı. Johnsen testiküler biyopsi skoru İ/R grubunda en düşük bulundu ve İ/R+PRP grubuyla arasındaki fark anlamlı saptandı. ($p<0,05$). Sham ve Sham+PRP grupları arasında fark izlenmedi ($p<0,05$). Semen parametreleri Sham ve Sham+PRP grubu arasında fark göstermezken, İ/R+PRP grubunda İ/R grubuna kıyasla tüm parametrelerde üstündü ($p<0,05$). Fertilize oosit sayısı Sham ve Sham+PRP grubunda fark göstermedi ($p>0,05$) ancak İ/R+PRP grubunda İ/R grubundan yüksek bulundu ($p<0,05$). Bölünen oosit sayılarına bakıldığında, PRP uygulanan gruplarla uygulanmayan kontrolleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

SONUÇ: 20 µl'lik PRP uygulamasının testis hasarı meydana getirmeden reperfüzyon hasarına karşı olumlu etkisinin olduğunu, sperm parametrelerine ve histopatolojik olarak reperfüzyon hasarına karşı olumlu etki göstermesine rağmen klinik fertilité sonuçlarına etkisinin sınırlı kaldığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: İn vitro fertilizasyon, İskemi-reperfüzyon hasarı, Testis torsiyonu, Trombositten zengin plazma

ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PRP ON SPERM FUNCTIONS BY ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS

INTRODUCTION AND AIM: Testicular torsion is one of the real emergencies of urology, which develops suddenly and requires immediate intervention when diagnosed. Despite the timely detorsion treatment, testicular ischemia/reperfusion (I/R) damage occurs. In recent years, studies with platelet-rich plasma (PRP) in I/R injury are promising. The aim of our study is to evaluate the effect of PRP on sperm functions in testicular I/R damage in vitro.

MATERIALS AND METHODS: 12-week-old fifty Wistar Albino male rats; randomized control(Sham), Sham+PRP administration(Sham+PRP), ischemia(I), PRP administration after 4 hours of ischemia(I+PRP), torsion/detorsion(I/R) and PRP administration after torsion/detorsion(I/R+PRP) groups. 2 male rats were used for PRP preparation and 12 female rats were used for oocyte retrieval. Torsion was applied to the right testis at 720 degrees. After a 4-hour torsion period, intratesticular 20 µl PRP injection was performed. After 28 days, all rats were sacrificed, sperm samples were collected and testicles were taken for histopathological examination. Oocytes were collected from female rats with controlled ovarian stimulation and oestrus synchronization and cultured after insemination. Samples cultured for up to 5 days were examined for the number of fertilized oocytes and the number of divided oocytes.

RESULTS: The most significant reduction in testicular weight was in the I and I/R groups. The Johnsen testicular biopsy score was the lowest in the I/R group and the difference between the I/R+PRP group was significant. ($p<0.05$). No difference was observed between Sham and Sham+PRP groups ($p<0.05$). While semen parameters did not differ between Sham and Sham+PRP groups, they were good in all parameters in the I/R+PRP group compared to the I/R group ($p<0.05$). The number of fertilized oocytes did not differ in the Sham and Sham+PRP groups ($p>0.05$), but it was higher in the I/R+PRP group than in the I/R group ($p<0.05$). Considering the number of dividing oocytes, no significant difference was found between the groups that were administered PRP and their controls ($p>0.05$).

CONCLUSION: 20 µl PRP application may protects the testis against reperfusion injury without causing testicular damage, and although it has a positive effect on sperm parameters and histopathologically against reperfusion damage, its effect on clinical fertility results is limited.

Keywords: In vitro fertilization, Ischemia-reperfusion injury, Platelet-rich plasma, Testicular torsion

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Testis torsiyonu (TT), spermatik kordun dönmesi sonucu testise giden kan akımının bozulmasıyla meydana gelen klinik tablodur.

25 yaş ve altındaki erkeklerde testis torsiyonu, testis kanserinden üç kat daha yaygındır ve tahmini insidans yılda 100.000'de 4.5 vakadır (Mansbach ve ark., 2005; Mellick, 2012). Testis torsiyonu sonrası erkeklerin %36 ila %39'unun sperm konsantrasyonun 20 milyon/mL' nin altında olduğu gösterilmiştir (Visser ve Heyns, 2003). Testisin zamanında ve yeterli şekilde detorsiyonu ve fiksasyonuna rağmen, intraoperatif olarak uygun olarak değerlendirilse bile hastaların yarısı kadarında testis atrofisi gelişebilmektedir (Lian ve ark., 2016).

Detorsiyon, testise normal kan akışını sağlamak için kritik öneme sahiptir. İlginç bir şekilde, testisin kısa sürede detorsiyonu her zaman yardımcı olmaz ve yine de sorunlara neden olabilir; bunun nedeni reperfüzyon hasarıdır (Mogilner ve ark., 2006). Kan akışını geri döndürmek için detorsiyon gerekli olsa da, iskemide kalan dokulara olan reperfüzyon hasarı artırılabilir. Bu nedenle, birçok çalışma iskemi/reperfüzyon hasarının torsiyon/detorsiyonda serbest radikal süpürücüler (edaravone), antioksidan ilaçlar (E vitamini, raxofelast, taurin, alfa-lipoik asit, simvastatin, resveratrol, edaravone, melatonin ve apocynin), antiinflamatuvar ilaçlar (melatonin, apocynin, taurin, resveratrol, simvastatin, ebselen, askorbik asit), steroid yapıda olmayan antienflamatuvar ilaçlar (ibuprofen, deksketoprofen gibi), NO donörleri (L-arginin), nötrofil elastaz inhibitörleri (sivelestat), PDE5 inhibitörleri (sildenafil, tadalafil) ve glibenklamid gibi potansiyel terapötik ajanlarla tedavisinin etkinliğini incelemiştir (Shimizu ve ark., 2016). I/R'nin neden olduğu oksidatif stresi azaltmaya yönelik farmasötik yaklaşımlar, birkaç potansiyel farmasötik ajan önermektedir. İdeal olarak, bu ajanların müdahaleden hemen önce ve/veya ameliyattan hemen sonra uygulanması, her iki testise yönelik reperfüzyon hasarının daha iyi kontrol edilmesini sağlayabilir. Ne yazık ki, çalışmalar hem detorsiyon hem de tedavi için farklı zaman aralıkları işaret etmektedir (Shimizu ve ark., 2016).

Trombositten zengin plazma (PRP), büyüme faktörleri, sitokinler ve hormonlar açısından zengin insan ve hayvan kanından elde edilen benzersiz bir otolog ajan

olmakla birlikte oksidatif stresi ve reaktif oksijen türlerinin oluşumunu azalttığı ve çeşitli antioksidan enzimlerin ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (Martins ve ark., 2016). PRP tedavisinin, böbrek, kalp ve ekstremiteler kasının in-vivo iskemi/reperfüzyon organ modellerinde faydalı olduğu bulunmuştur (Mishra ve ark., 2011; Bakacak ve ark., 2016; Hargrave ve ark., 2016; Martin-Sole ve ark., 2016). Bu çalışmalarda, iskemi/reperfüzyon hasarı sırasında koruyucu amaçla epidermal büyüme faktörü (EGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta 1 (TGF- β 1) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi büyüme faktörlerinin salınımı olduğu için iskemi/reperfüzyon organ modellerinde PRP değerlendirilmiştir. PRP, hücre tedavisinde çeşitli klinik uygulamalarda kullanılmakla birlikte yapılan çalışmalarda PRP'nin testisin I/R hasarına karşı doku düzeyinde olumlu etkileri gösterilmiştir (Sağnak Akıllı, 2018; Samy ve ark., 2020; Şekerci ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalarda kontrol, torsiyon, torsiyon-detorsiyon, ilaç+torsiyon, ilaç + torsiyon-detorsiyon gruplarının karşılaştırıldığı ve testis dokusunun histopatolojik olarak, biyokimyasal malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) konsantrasyonları ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, oksidan ve antioksidan durumu değerlendiren oksidatif stres indeksi (OSI), toplam antioksidan durum (TAS), toplam oksidan durum (TOS) değerlendirilmelerinin yapıldığı görülmektedir (Gökçe ve ark., 2010). Bazı çalışmalarda ise testis dokusu değerlendirmesi için yine patolojik Johnsen testiküler biyopsi skorları ve Cosentino sınıflaması gibi yöntemler kullanılmıştır (Aydoğdu ve ark., 2021; Sağnak Akıllı, 2018; Samy ve ark., 2020; Şekerci ve ark., 2017).

Son dönemde spermatogonial kök hücre kültürlerinde PRP'nin etkisini araştıran bir çalışmada PRP'nin proliferasyonu artırdığı gösterilmiş ve infertilite tedavisinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Khadiji ve ark., 2020). Bununla birlikte bahsedilen çalışma örnekleri eldeki testis dokusunun gelecekteki fertilité başarısını objektif olarak göstermede yeterli olmayıp sadece deney sonu histolojik ve biyokimyasal durumunu ortaya koyabilmiştir.

Bu çalışmada benzer şekilde; kontrol, torsiyon, torsiyon-detorsiyon, kontrol +PRP, torsiyon+PRP, torsiyon-detorsiyon+PRP gruplarını değerlendirmeye birlikte farklı olarak uygulama sonrası yeni spermatogenez sonucu oluşan sperm hücreleriyle

invitro fertilizasyon işlemi uygulayarak tedavinin klinik fertilite sonuçlarına etkisini değerlendirmeyi amaçladık. Böylece bireylerde torsiyon detorsiyonda kullanılabilecek PRP tedavisinin uzun dönemde fertiliteye olan koruyucu etkisinin ve bu hastalarda uygulanabilecek yardımcı üreme tekniklerinin başarısındaki etkinliğinin değerlendirmesini amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

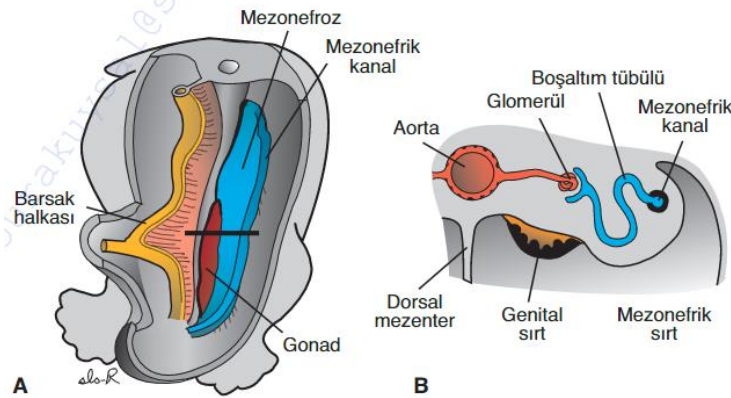
2.1. Testis

2.1.1. Embriyolojisi

Embriyonun genetik cinsiyeti sekonder oositi dölleyen sperm hücresinin taşıdığı seks kromozomu çeşidine bağlı olarak fertilizasyon aşamasında belirlenir (Şeftalioğlu, 1998). Cinsiyet farklılaşması kimisi otozomal da olan birçok farklı genin rol aldığı bir süreç olsa da anahtar rol Y kromozomunun kısa kolunda bulunan, seks belirleyici gen olarak adlandırılan SRY genindedir (Yp11). Bu gene ait protein ürünü olan bir transkripsiyon faktörü downstream genlerinin kaskadını başlatır ve rudimenter seksüel organların kaderini belirler. Bu faktörün yokluğunda kadın gelişimi meydana gelir (Kaplan ve ark., 2023; Moore, 2008).

2.1.1.1. Gonadların gelişimi

Cinsiyet fertilizasyon sırasında belirlenmesine karşın, gonadlar gelişimin 7. haftasına kadar dişi ya da erkek yönde morfolojik özellik göstermezler (Sadler, 2012). Gonadlar mezonefrozun hemen bitişiğinde longitudinal olarak uzanan bir çift gonadal veya genital sırt (çıkıntı) şeklinde ortaya çıkar (Şekil 2.1). Epitel ve altındaki mezenşimden oluşan gonadal sırtlar içinde 6. haftaya kadar germ hücreleri bulunmaz.

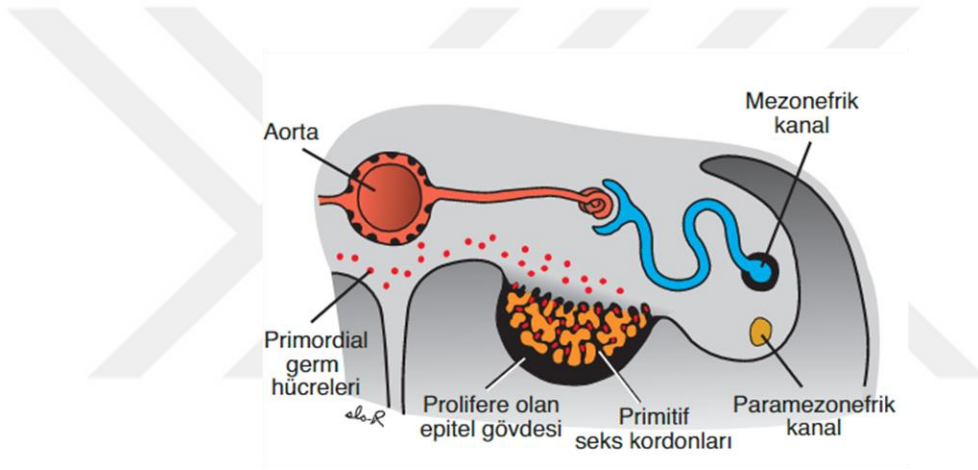


Şekil 2.1. Genital ve gonadal çıkıntının şematik gösterimi (B. A'daki şekilde işaretlenmiş kısımların transvers kesiti) (Sadler, 2012'den değiştirilerek kullanılmıştır)

Gelişimin 3. haftasında epiblasttan kökenli alan primordiyal germ hücreleri, primitif çizgiyi takip ederek yolk kesesinin allantoise komşu duvarında bulunan endoderm

hücrelerinin arasına yerleşirler. 4. haftada ise ameboid hareketle son barsağın mezenterinin sırt kısmı boyunca ilerlerler ve 5. haftanın ilk yarısında primitif gonadlara ulaşırlar. Altıncı haftada ise gonadal sırtları işgal ederek gonadal farklılaşmayı sağlarlar. Primordiyal germ hücrelerinin gonadal sırtlara ulaşmamları durumunda gonadal gelişim tamamlanamaz. Gonadların testis veya overe farklılaşmalarında primordiyal germ hücreleri indükleyici etkiye sahiptir (Sadler, 2012).

Germ hücrelerinin gonadal sırtta geliştiği sırasında gonadal çıkıntıda bulunan yüzey epiteli çoğalarak altındaki mezenşime gömülür. Düzensiz şekilli bu yapı primitif seks kordonlarını oluşturur (Sadler, 2012)(Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Primitif seks kordonlarının oluşumu (Sadler, 2012'den değiştirilerek kullanılmıştır.)

Tüm embriyolarda bu kordonların yüzey epiteline bağlı bulunmaları nedeniyle dişi veya erkek gonad ayrımı bu dönemde yapılamaz. Dolayısıyla bu evrede bulunan gonadlara farklanmamış gonad adı verilir.

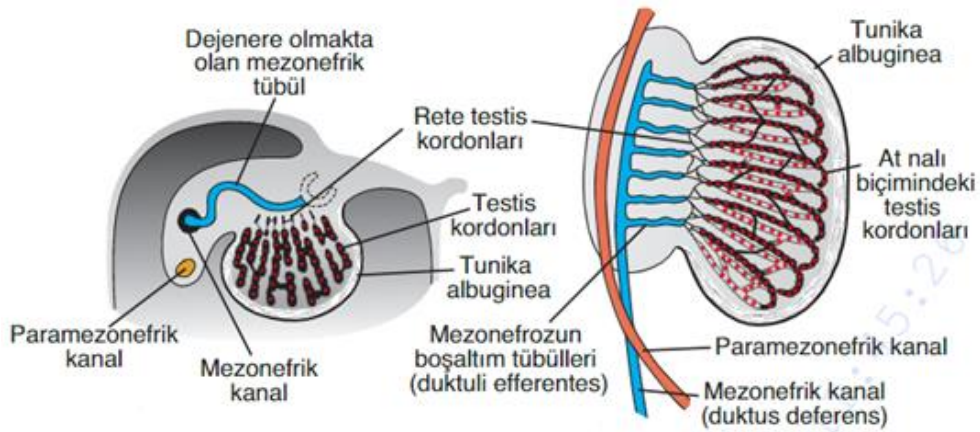
2.1.1.2. Testislerin gelişimi

Genetik olarak XY kromozom kompleksine sahip erkek embriyo, Y kromozomu üzerinde bulunan SRY genin etkisiyle testis belirleyici faktörü (TDF) kodlar. Primitif seks kordonları, TDF etkisiyle çoğalmaya devam ederek medullanın derinliklerine ilerlerler. Bu sayede testis veya medüller kordonlar oluşur. Bu kordonlar bir ağ yapısı şeklinde rete testisi oluşturmak üzere bezin hiler bölgesine dağılırlar. Gelişimin sonraki dönemlerinde yoğun fibröz bağ dokusuyla tunika albuginea yüzey epiteli testis kordonlarını ayırır.

4. ayda testis kordonları at nalı şeklindedir ve nalın uç kısmı rete testis ile devamlıdır. Artık testis kordonlarını bezin yüzey epitelinden ve primitif germ hücrelerinden gelişen Sertoli hücreleri oluşturur.

Testis kordonları arasında genital çıkıntı mezenşiminden köken alan Leydig hücreleri bulunur. Kordonların farklılaşmaya başlamasıyla Leydig hücreleri de gelişmeye başlar ve gestasyonun 8. haftasına gelindiğinde bu hücrelerde testosteron üretimi görülür. Ayrıca sertoli hücrelerinden 8. haftadan itibaren AMH (anti-Müllerian hormon, MIS) da salgılanmaya başlar. AMH'nın etkisiyle paramezonefrik kanallar regresyona uğrarlar. Testosteron üretimi 8-12 haftalar arasında maksimum seviyeye ulaşır ve testisler testosteron üretimi ile dış genital organların ve genital kanalların erkek fenotipte gelişmesine etki gösterir (Sadler, 2012). Testosteron etkisiyle mezonefrik kanallardan seminal vezikül, vas deferens ve epididim gelişir.

Testis kordonları puberteye kadar solid halde bulunurlar. Puberteyle birlikte kordonlarda lümen oluşur ve seminifer tübüllere dönüşürler. Hemen ardından tübül kanalları rete testis ile birleşir ve onlar da duktuli efferentes ile devam ederler. Eferent duktuslar mezonefrik sistemin boşaltım kanallarının geri kalan kısımları olup, rete testisi ve Wolffian (mezonefrik) kanallarını birbirine bağlayarak duktus deferens'i meydana getirirler (Sadler, 2012) (Şekil 2. 3).



Şekil 2.3. Gelişimin 8. haftasındaki genital kanallar ve testis (Sadler, 2012'den değiştirilerek kullanılmıştır.)

Testislerin skrotuma inişlerini kontrol eden mekanizmalar henüz tam olarak belli olmamakla birlikte süreç androjenler, AMH, ligamentöz yapılarla birlikte organların

büyümesi ve intraabdominal basınç artışı etkisi altındadır (Sadler, 2012). Gelişimin 8. haftasının sonunda mezonefroz ve testis karın arka duvarına tutunmuş haldedir. Mezonefrozun dejenerasyonu bu yapı gonadın mezenteri halini alır. Ardından kaudale doğru uzayarak yine testisin kaudaliyle ilişkili gubernakulum adı verilen ligament halini alır. Bu mezenşimal yapı testisin aşağı inişinden önce, inguinal bölgede internal ve eksternal oblik kasların arasında sonlanır. Gubernakulumun ekstraabdominal parçası, testis inguinal bölgeye inmeye başlarken inguinal bölgeden skrotal şişliğe doğru ilerlemeye başlar. İntraabdominal göç süresince meydana gelen gubernakulumdaki şişme reaksiyonu, embriyonun büyümesiyle zıt olarak gubernakulumun kısa kalmasına yol açar. Bu durum testislerin 12. haftaya kadar böbrek alt polünden inguinal bölgeye gelmesiyle sonuçlanır (Buraundi ve ark., 2011; Ağras, 2012). 28. haftada inguinal kanalı geçen testisler 33. haftada skrotuma ulaşırlar.

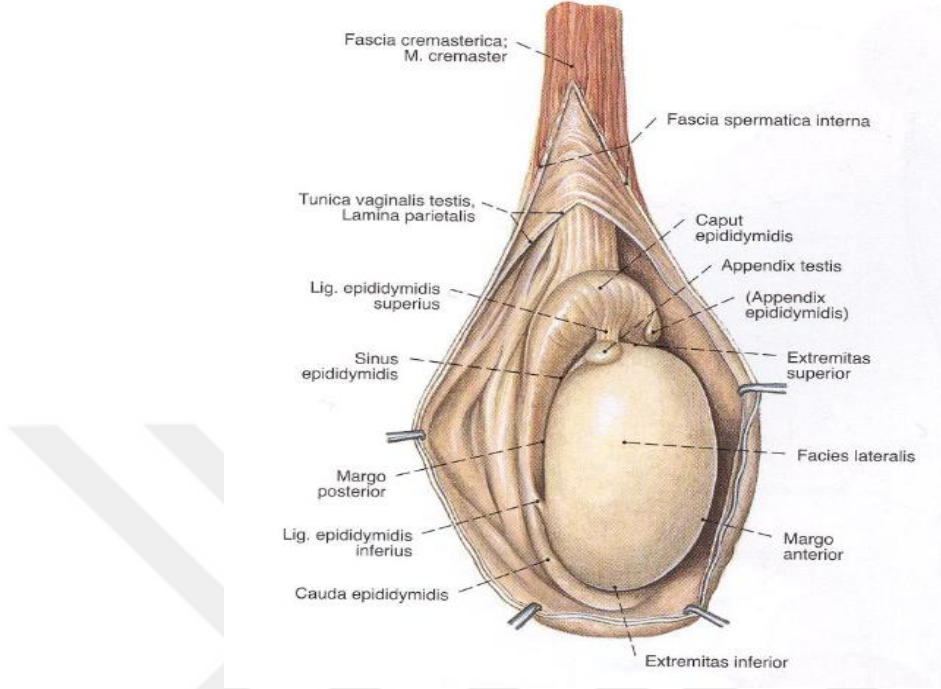
2.1.2. Anatomisi

Testisler skrotum içerisinde, endokrin ve üreme sisteminde görevli bir çift ovoid şekilli beyaz renkli organdır. Yetişkinlerde ortalama 15-25 ml hacminde ve 20 gr ağırlığında olup, yaklaşık 3 cm genişliğinde, 2,5 cm derinliğinde ve 4-5 cm uzunluğundadır (Prader, 1966; Tishler, 1971).

Erkeklerin yaklaşık olarak %85'inde sağ testis sol testisten daha aşağıda konumlanır. Testisler skrotumdaki konumları, plexus pampiniformisin ısı düzenleme mekanizması ve skrotal derinin özgün yapısıyla vücut sıcaklığından yaklaşık 3-4° C daha düşük ısıda tutulur.

Testislerin margo posterior ve margo anterior denilen iki kenarı, facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü, extremitas inferior ile extremitas superior olmak üzere iki ucu bulunmaktadır (Arıncı ve Elhan, 2016). Testislerin üst ucunda Appendix testis denilen bir yapı bulunur. Bu yapı müllerian (paramezonefrik) kanal artığı olup kadınlardaki tuba uterinanın abdominal kısmının karşılığıdır. Epididimis testisin arka yüzünün dış kısmındadır ve medialinde funiculus spermaticus yer alır (Paulsen, 2018)(Şekil 2.4). Testisin margo posterior'unun medial kısmı hariç geri kalan tamamı viseral periton ile

kaplıdır. Peritonsuz medial kısmında epididimis ve testisin damar-sinir, kanal yapıları bulunur (Sargon, 2016).

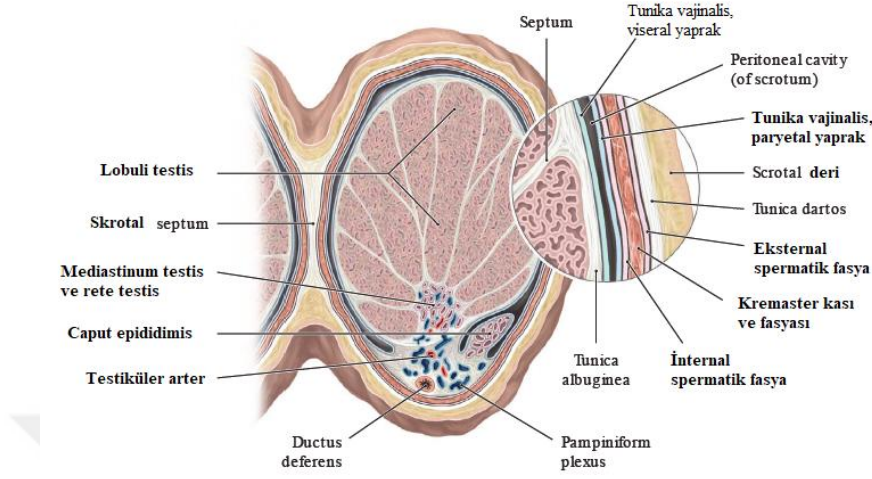


Şekil 2.4. Testis ve ekleri (Paulsen, 2018’den değiştirilerek kullanılmıştır)

2.1.2.1. Mikroanatomik yapı

Testisler en içte tunika vasküloza, ara tabakada tunika albuginea ve en dış kısımda ise tunika vajinalisin viseral tabakalarından meydana gelen kapsül yapısına sahiptir. Bu kapsül testisin posterolateral kısmında, üst uç ile alt uç arasında uzanan bölümde kalın fibröz bir yapı halinde olup üzerinde Epididimis bulunur. Bu yapı mediastinum testis denilen, kan damarlarının, duktusların ve tunika albugineanın testis kapsülünü geçtiği bir yapıdır (Şekil 2.5). Mediasteninin devamında tunika albugineanın iç yüzüne tutunan, her biri kıvrımlı tübül içeren, sayıları 200-300’ ü bulan, koni şekilli lobüller oluşturan septula testis bulunur (Özdiler ve Aydos, 2000). Bu septal yapı ile testis parankimi lobuli testis isminde koni şeklinde bölmelere ayrılır. Her lobülün bir sentrifugal arteri bulunmaktadır. Seminifer tübüller kıvrımlı ve uzun bir yapıdadır ve her iki uç kısmı da rete testiste sonlanır. Lobüllerin tepe kısmına doğru seminer tübüllerin kordonları düzleşerek tubuli rekti adını alır. Tubuli rektelerin mediyastende birleşmesiyle oluşan Rete testisten ise 12 ila 20 arasında duktuli efferentes çıkar ve epididim başına ilerler.

Her bir lobülün kanalı tek bir epididim kanalına açılır. Epididim içerisindeki kanalların çapı ve kalınlığı kuyruk kısmına doğru artar ve vas deferens meydana gelir.



Şekil 2.5. Mediastinum testisin bulunduğu seviyeden skrotum ve testisin transvers kesiti ve testis iç yapısının şematik gösterimi (Schuenke ve ark., 2019'dan değiştirilerek kullanılmıştır.)

Seminifer tübüller gelişmekte olan germ hücreleri ve Sertoli hücreleri, fibrositler ve bazal membranda bulunan miyoid hücreler gibi destek hücrelerini barındırır (Kavoussi, 2021). Tübüllerin çevresindeki intersitisyel doku ise testosteron üreten Leydig hücrelerini, makrofajları, mast hücrelerini, lenfatikleri, kan damarlarını ve sinirleri içerir. İnterstisyel doku toplam testis hacminin %20 ila %30'unu oluşturur (Setchell ve Brooks, 1988).

2.1.2.2. Testisin arteriyel dolaşımı

Testisler, temel olarak internal spermatik (a. testicularis) arter, eksternal spermatik (a. cremasterica) arter ve deferensiyel (a. ductus deferentis) arter olmak üzere 3 arteriyel sistem tarafından beslenirler. Testiküler kan akımının üçte ikisini tek başına a. testicularis sağlarken, deferensiyel ve kremasterik arterler birlikte kan akımının yaklaşık 1/3'ünü sağlamaktadır (Harrison ve Barclay, 1948; Raman ve Goldstein, 2004). A. testicularis aortanın, renal arterlerin çıkış yerinin altından başlayarak retroperitonda, psoas major'un önünde pelvise ilerler. Her iki tarafta da pelvise ulaştıklarında genitofemoral sinirin, üreterin ve eksternal iliyak arterin ön tarafında bulunurlar. Ardından anulus inguinalis profundus'a girerek funiculus spermaticus içerisine katılır ve inguinal kanaldan skrotuma geçerler. Testiküler arter seyri sırasında

birkaç dala ayrılabilir ki olguların % 31-88'inde bu dallanma inguinal kanalda oluşur (Beck ve ark., 1992; Jarow 1991). İnferior testiküler arter, internal arter ve caput epididimis'in başına giden capital arter ayrılan arter dallardır. Testisin alt polünde kremasterik ve deferensiyel arterlerle, üst polünde ise defensiyel arterlerle rr. epididymales'ler aracılığıyla anastomoz yapar (Jarow, 1990; Fowler, 1959).

Deferensiyel arter, internal iliak arterin umbilikal arter dalından köken alan süperior vezikal arterinin bir dalıdır. Kimi zaman inferior vezikal arterden de köken alır.

Eksternal spermatik (kremasterik) arter, a. epigastrica inferior'dan köken alarak m. cremaster ve spermatik kordu çevreleyen yapıları besler (Balci ve ark., 2021).

2.1.2.3. Testisin venöz drenajı

Testiküler kan akımı internal spermatik (testiküler) ven, eksternal spermatik (kremasterik) ven, deferensiyel (vasal) ven ve gubernakuler ven olmak üzere 4 ayrı venöz sisteme drene olmaktadır. Gubernakuler ven yüzeyel venöz ağ ile bağlantılıken, diğer üç ven ise derin venöz ağ ile bağlantılıdır (MacLennan, 2012).

Derin venöz ağın anterior kompartmanını, testis ve epididimin ön yüzünü örten yüzeyel pleksustan çıkan damarlar oluşturur. Bu damarlar onlarca daldan oluşan bir ağ kompleksi yaparak pampiniform pleksusu oluşturur. Bu pleksus testiküler arterin çevresinde, spermatik kordda vas deferensin önünde seyreder. Eksternal inguinal ring seviyesinde testiküler arterin kıvrımlı yapısıyla yakın ilişkisi, ısı değişim mekanizmasıyla ilişkilidir. Pampiniform pleksus damarları nihayetinde birleşerek pelvisten yukarı tek bir ven şeklinde ilerler. Sağ testiküler ven inferior vena cavaya açılırken, sol testiküler ven sol renal vene açılır (MacLennan, 2012). Orta kompartmanın venöz drenajını epididimin arka kısmını drene eden funiküler venler ve deferensiyel (vasal) venler sağlar. Funiküler venler eksternal iliyak vene boşalırken; vasal venler spermatik kordun pleksusuna, prostatik pleksusa ve vezikal pleksusa drene olur. Arka kompartmanının venöz drenajını sağlayan eksternal spermatik (kremasterik) ven ise eksternal inguinal ring seviyesinde korddan ayrılarak internal safen ya da inferior epigastrik vene boşalır. Yüzeyel venöz ağda bulunan gubernakuler (skrotal) damarlar ise internal safen veya yüzeyel perineal damarlar aracılığıyla internal pudental vene açılır.

2.1.2.4. Testisin lenfatik drenajı

Testislerin lenfatik drenajı derin ve yüzeysel lenfatikleri olmak üzere iki bölümde incelenebilir. Yüzeysel lenfatik damarları tunika vajinalis'ten, derin lenfatik damarları ise testis ve epididimden başlar. Testiküler arterler ile birlikte spermatik kord içinde seyrederek Testiküler arterin üreteri çaprazladığı seviyeye kadar psoas kasının ön kısmında uzanırlar. Testiküler venleri takip ederek aortik ve preaortik lenf bezlerine açılırlar.

2.1.2.5. Testisin inervasyonu

Testis inervasyonu, renal arter seviyesindeki aortik pleksus, süperior mezenterik pleksuslar ve kollateral ganglionların ilişkide olduğu sempatik lifler ve genel viseral duyu lifleri ile sağlanır (Rauchenwald ve ark., 1995). Bu lifler testiküler arterler ile birlikte seyrederek testise ulaşırlar ve testise duyuşal ve sempatik inervasyonu taşırlar. Splanchnik ve torasik sinirlerin de çıktığı T5-T12 seviyesi ağrı iletimiyle ilişkili spinal kord seviyesidir. Genitofemoral sinirin genital dalı, internal inguinal halkadan kanala girerek kremasterik kası innerve eder. Ayrıca tunika vajinalis'in her iki yaprağının ve skrotumun duyarlılığını sağlar.

Pelvik pleksusta bazı afferent ve efferent lifler karşı tarafın pleksusu ile çapraz yapmaktadır. Bu ilişki testis patolojilerinin kontralateral testis fonksiyonlarını etkileyebileceğini açıklamaktadır (Taguchi ve ark., 1999).

2.1.3. Testis histolojisi ve spermiyogenez

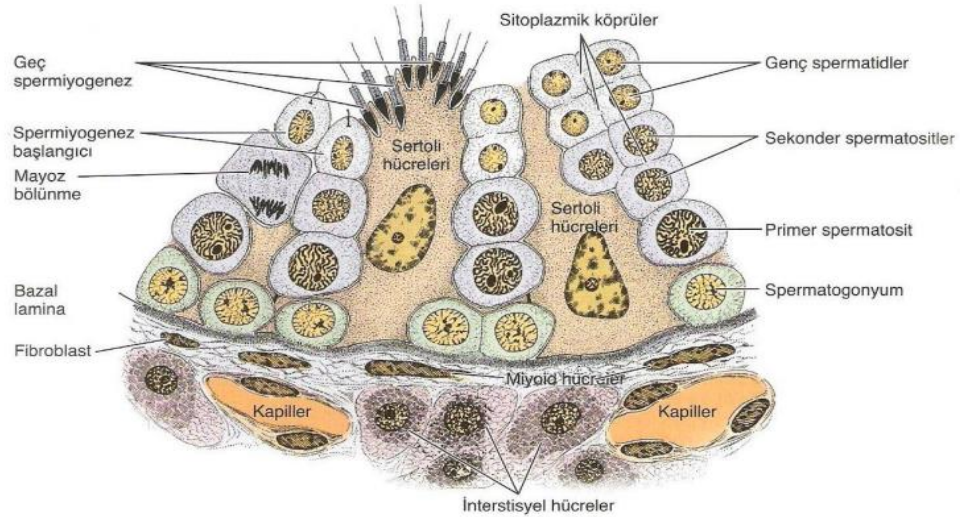
Testisler, hormon üretimi ve spermatozoon üretimi ile embriyonel gelişim, seksüel olgunlaşma ve üreme işlevlerini etkeleyen organlardır. Spermatozoon üretimi ve atılımı ile ekzokrin; interstisyel hücrelerin salgılarıyla holokrin, testosteron üretimiyle de endokrin fonksiyonları bulunur. Leydig hücrelerinden üretilen testosteron ile embriyonel dönemde erkek fetus yönünde gelişimin ilerlemesi sağlanırken, pubertede sekonder cinsiyet karakterlerinin oluşması sağlanır. Erişkin dönemde ise sekonder cinsiyet karakterlerinin devamı ve spermatozoon üretimi yine testisin işlevine bağlıdır (Eşrefoğlu, 2009)

Mediastinum testis'te, kapsülden testis içerisine uzanan septum adı verilen fibröz uzantılar, testisi lobül adı verilen ve sayıları 250'yi bulan piramidal bölmeye ayırır. Bu

lobüller izole değildir ve çoğunlukla birbirleriyle bağlantılıdır. Her bir lobülde Leydig adı verilen intersitisyel hücreler, sinir, kan ve lenf damarları içeren gevşek bağ dokusu ve bu bağ dokusuyla çevrili yaklaşık 1-4 adet seminifer tübül bulunur. Tübül yapısı mediastinum testis'e doğru kısalarak kıvrımlı yapısını kaybederek düzleşir ve tubuli rekti adını alır. Tubuli rekti'ler de rete testis olarak devam ederler. Ardından ductuli efferentes aracılığıyla rete testis caput epididimis'e bağlanır (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.3.1. Seminifer tübüller

Erişkin erkek testisinde yaklaşık olarak 250-1000 adet seminifer tübül bulunur ve günde ortalama 2×10^8 adet spermatozoid üretir. Tübüller çevresini saran gevşek bağ dokusu, bazal lamina ve seminifer ya da germinal epitel ile sarılmıştır (Şekil 2.6). Tübülün çevresini saran fibröz tunika propria içerisinde birkaç fibroblast katmanı bulunmaktadır. Bazal laminaya komşu en iç katman, düz kas fonksiyonu gösteren yassı şekilli miyoid hücreleri bulundurmaz. Bu hücreler tübüllerin kasılmasında rol oynar. Seminifer epitel spermatogenez serisinin farklı aşamalarındaki hücreleri ve destek hücreleri de denilen Sertoli hücreleri olmak üzere iki tür hücre içerir.



Şekil 2.6. Seminifer tübül ve çevre bağ dokusunda yerleşmiş hücrelerin şematik görünümü (Junqueira ve Carneiro, 2009'dan değiştirilerek kullanılmıştır.)

Sertoli hücreleri bazal laminadan tübüllere doğru uzanan prizmatik hücrelerdir. Foliküler stimülan hormon (FSH) için hücre membranlarının bazal kısmında reseptörler bulunur. Seminifer tübül lümeni zonula okludens (sıkı bağlantı) ile bazal

ve lüminal olmak üzere iki kompartmana ayrılır. Bu yapı kan-testis bariyerini oluşturarak spermatozoonları otoimmün reaksiyonlardan korur. Sertoli hücreleri, spermatidlerin olgunlaşmasında fazla sitoplazmik ürünlerin fagosite edilmesinde, spermatozoonların beslenmesi ve desteklenmesinde görev alır. Fetal dönemde salgıladığı AMH ile müller kanalının regresyonu sağlanır. Ürettiği fruktozca zengin salgıyla spermatozoonların duktal yapılar içerisinde hareketini kolaylaştırır. Ayrıca sertoli hücrelerinde ön hipofizden salınan FSH etkisiyle aktivin ve inhibin sekresyonu yapılır ve Androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezlenir. ABP ile spermatogenezin normal ilerleyişi için gerekli tübüler testosteron konsantrasyon düzeyi sağlanır. (Junqueira ve Carneiro, 2009).

Spermatogenez serisinin hücreleri bazal membranın üzerinde 4-8 tabaka halinde kümelenmiş hücre grubu şeklinde yer alır. Temel amaç spermatozoon üretmek olup bazal membrana en yakın hücre grubu primitif ana hücreler olan spermatogonyumlardır. Lümene en yakın bulunanlar ise içlerinde en olgunlaşmış hücreler olan spermatidlerdir. Lümen içerisinde ise spermiyumlar bulunur. Primitif ana hücrelerden olgun sperm hücresinin oluşumuna kadar geçen süre yaklaşık olarak 10 haftadır (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.3.2. Spermatogenez

Spermatogenez primitif bir hücre olan spermatogonyumdan mayoz ve mitoz bölünmeler sonucu spermatid oluşum sürecidir. Bu süreç tüm tübüllerde aynı anda senkronize gerçekleşmek yerine, germinal epitelde farklı olgunlaşma evrelerinde ard arda meydana gelir.

Spermatogonyumlar, seminifer epitelin bazal laminasına komşu olan, yaklaşık 12 mikrometre çaplı diploid (2N; N:haploid) germ hücrelerdir (Junqueira, 2009). Mitoz bölünmeyle meydana gelen spermatogonyumlar tip A ya da tip B spermatogonyum olmak üzere 2 hücreden birine dönüşür. Tip A kök hücre olarak bölünmeyi sürdürebilir. Tip B spermatogonyumlar ise geçirdikleri mitoz bölünmelerle farklılaşarak primer spermatositlere dönüşen, kromatini yuvarlak nükleusunun periferinde yoğunlaşmış, belirgin nükleoluslu, progenitör hücrelerdir. (Junqueira ve Carneiro, 2009).

Tip B spermatogonyumlardan mitoz bölünmeyle oluşan primer spermatositler serinin en büyük ve iri hücresi olup 46 kromozoma (44 + XY) ve 4N (N:haploid) DNA' ya sahiptir. Primer spermatositler meydana gelmelerinin hemen ardından 22 gün sürecek birinci mayozun profaz aşamasına girerler (Junqueira, 2009). Birinci mayoz bölünme sonrası oluşan sekonder spermatositlerin 23 kromozomu (22 + X/Y) ve 2N DNA' sı bulunur (Eşrefoğlu, 2009). Sekonder spermatositler daha küçük hücrelerdir ve ikinci mayoz bölünmeye girerler. Her iki mayoz bölünme arasında DNA sentezi (S fazı) olmadığından ikinci bölünmeden sonra sekonder spermatositlerden meydana gelen spermatidlerin DNA miktarı yarıya inerek haploid (1N) hücreler oluşur (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.3.3. Spermiyogenez

Spermatidlerin hücre yapısının değişerek hareketli spermatozoonlara dönüşümüne spermiyogenez adı verilir (Eşrefoğlu, 2009). Spermatozoon üretiminin son aşamasıdır ve süreç sonunda spermatidler, hiç bölünmeden DNA' larını ovuma aktarabilmek için özelleşmiş hücrelere dönüşürler. Bu süreçte spermatidlerin çekirdekleri yoğunlaşarak uzar, kamçıları gelişir, akrozom oluşur ve sitoplazmalarının bir bölümü kaybolur (Junqueira ve Carneiro, 2009). Sonuçta seminifer tübülün lümen kısmına yerleşen olgun spermatozoon oluşur. Spermiyogenez 3 aşamada gerçekleşir.

2.1.3.3.1 Golgi fazı

Spermatidler stoplazmalarında çekirdeklerinin yakınında bulunan bir golgi kompleksi, bir çift sentriyol, mitokondriler, düz endoplazmik retikulum ve serbest ribozomları içerir. Küçük PAS pozitif granüller olan proakrozomal granüller golgi kompleksinde birikirler. Ardından birleşir ve zarla sınırlı bir akrozomal vezikül içerisinde bulunan tek bir akrozomal granüle dönüşürler. Sentriyoller ise bulundukları yeri terk ederek akrozomun karşı tarafında hücre membranına yakın bir yere yerleşir ve kamçı aksonemini oluşturmaya başlarlar. Sentriyoller tekrar çekirdeğe doğru göçerken aksonem bileşenleri çevresine sarılır (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.3.3.2 Akrozomal faz

Akrozomal granül çekirdeğin ön yarısını kapsayacak şekilde çevreler ve akrozom adını alır. Akrozom, hiyaluronidaz, asit fosfataz, nörominidaz ve tripsin benzeri etkisi olan proteaz özellikli hidrolitik enzimler içerir. Bu özellikleriyle akrozom özelleşmiş bir

lizozom görevi görür. Bu enzimler aracılığıyla oositlerin çevresinde bulunan korona radyata hücreleri birbirinden ayrılır ve zona pellusida sindirilir. Olgun sperm hücreleri bir oosit ile karşılaştığında, akrozom dış membranı sperm hücresinin plazma zarıyla kaynaşır ve akrozomal enzimler hücre dışına boşalır. Bu reaksiyona akrozom reaksiyonu adı verilir ve döllenmenin ilk aşamalarından biridir. Akrozomal fazda çekirdek uzayarak yoğunlaşır. Sentiollerden biri gelişerek flagellumu oluşturur. Mitokondriler ise flagellumun proksimal kısmına göç ederek spermatozoon hareketlerinin enerji ihtiyacını karşılayan kalınlaşmış orta parçayı oluşturur (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.3.3.3 Maturasyon (olgunlaşma) fazı

Geriye kalan fazlalık sitoplazma sertoli hücreleri tarafından fagositoza uğrar ve spermatozoonlar tübül lümenine geçer (Junqueira ve Carneiro, 2009).

2.1.3.4. İnterstisyel doku

Seminifer tübüller arasında kan damarları, lenfatikler ve sinirlerce zengin gevşek bir bağ dokusu bulunur. Bu doku içerisinde mast hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar ve farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri yer alır. Puberteyle birlikte bu hücelere poligonal ve yuvarlak şekilli, asidofilik sitoplazmalı, yuvarlak nükleuslu Leydig veya interstisyel hücreler olarak adlandırılan hücreler eklenir. Bu hücreler bağ dokusunda gruplar halinde veya tek tek bulunur. Sentezledikleri testosteronu beraber bulundukları kan veya lenf damarlarına göndererek endokrin sekresyon yaparlar. Steroid yapıda hormon salgıladıklarından stoplazmalarında vakuoller bulunur (Eşrefoğlu, 2009). Salgıladıkları testosteronun spermatogenezde, gonadotropin salgısının kontrolünde, embriyonel ve fetal hayatta cinsiyet farklılaşmasında önemli etkisi bulunur. Bazı dokularda testosteronun enzimatik dönüşümüyle dihidrotestosteron (DHT) üretilir. DHT, pubertede ve erişkinde sekonder seks karakterlerinin (kılınma, kas ve kıl dağılımı, ses kalınlaşması) oluşmasında etki gösterir.

2.2. Testis Torsiyonu

Testis torsiyonu (TT), spermatik kord ve içerisindeki yapıların kendi ekseninde dönmeye sonucu venöz konjesyon ve arteriyel akımda azalmaya yol açarak iskemiyle sonuçlanan ürolojik bir acildir (Lacy ve ark., 2023). Bilinen ilk olgu, Hunter tarafından

1776 yılında sol testis torsiyonu olgusu olarak bildirilmiştir (Çaman ve ark., 2014). Skrotum duvarına tutunan tunika vajinalisin arkada epididime yapışık olması ve gubernakulumun testisi postero-inferiorundan sabitlemesi normalde testisin hareketini kısıtlamaktadır. Bu yapıların zayıflığı ya da eksliği durumunda testis kendi çevresinde dönerek vasküler yapıları sıkıştırabilir ve sonucunda kan akımının bozulmasıyla karakterize testis torsiyonu meydana gelir.

Torsiyon sebepleri arasında; kremaster kontraksiyonları, travma, aşırı aktivite, pubertedeki testis dokusundaki değişim, soğuk hava, inmemiş testis ve inguinal cerrahi sırasında meydana gelen iatrojenik torsiyon yer almaktadır. Tunika albugineanın elastik olmayan yapısı, venöz konjesyon gelişmesiyle arteriyel dolaşımın da bozulmasına neden olur. Venöz tromboz ile başlayan süreç, arteriyel tromboza ve ardından da testiküler enfarkta ilerler. Torsiyonun derecesi ve süresi, gonad canlılığını ön görmede en önemli değişkenlerdir. İlk 4-8 saat çok önemli olsa da, süre kişiden kişiye değişebilmektedir. 24 saati aşan olgularda testisin canlılığı %18 civarındadır (Mellick ve ark., 2019). Torsiyon derecesinin artmasıyla gonad canlılığının azaldığı gösterilmiştir. Özellikle 360 derecenin üzerindeki torsiyonlarda, arteriyel akımın tamamen kesilebilmesi nedeniyle iskemik hasar daha erken ortaya çıkabilmektedir (Docimo ve ark., 2013).

Testis torsiyonu çoğunlukla unilateral olsa da, bilateral testiküler hasara yol açabildiği ve sperm kalitesinde bozulmaya neden olarak fertilitiyi etkilediği çeşitli hayvan çalışmalarında gösterilmiştir (Cosentino ve ark., 1984; Cosentino ve ark., 1985). Bilateral testiküler hasar refleks vazokonstriksiyon, konjenital displazi veya immünolojik reaksiyonlar gibi mekanizmalar ile açıklanmaya çalışılmıştır.

Torsiyon ile meydana gelen iskemi sonucunda kan-testis bariyeri bozulur. Testisten açığa çıkan antijenler nedeniyle kişi spermatogonialarına karşı antikor oluşturur ve otoimmünize olur (Docimo ve ark., 2013; Başaklar, 2006).

2.2.1. Epidemiyoloji

25 yaşın altındaki erkeklerde insidansı 1/4000 olup yeterli ve zamanında yapılan cerrahi detorsiyona rağmen hastaların %50'sinde testiküler disfonksiyon ve atrofi

gelişmektedir (Sharp ve ark., 2013). Yenidoğan ve adölesan yaş dönemlerinde olmak üzere iki dönemde pik yapmaktadır (Sauvat ve ark., 2002). Literatürde testis torsiyonu olan hastaların yaklaşık %61' inin 21 yaşın altı olduğu bildirilmiştir (Cummings et al., 2002). Başka bir çalışmada ise 18 yaş altında yıllık insidans 100.000'de 3,8 olarak bulunmuştur (Zhao ve ark., 2011). Erişkin yaş grubu ise tüm vakaların yaklaşık %14' ünü oluşturmaktadır (Rosenberg ve ark., 2021).

2.2.2. Sınıflandırma

Testis torsiyonu ekstravajinal, intravajinal ve testis eklerinin torsiyonu olmak üzere 3 başlıkta sınıflandırılmıştır (Favorito ve ark., 2004)(Şekil 2.7).

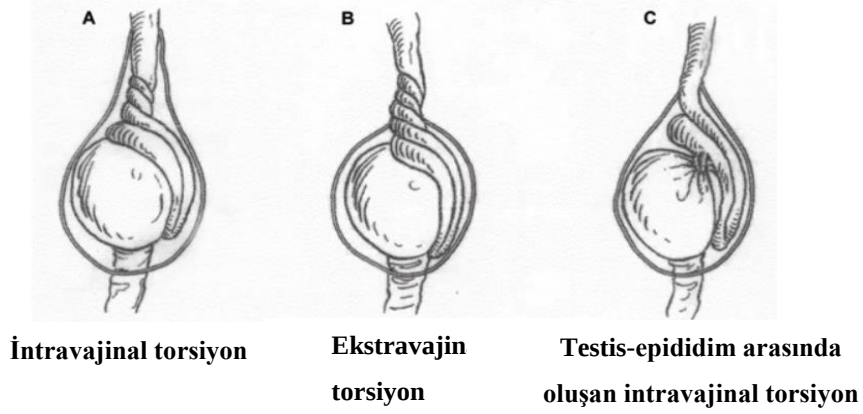
2.2.2.1. Ekstravajinal testis torsiyonu

Ekstravajinal testis torsiyonunda testis, kord yapıları ve tunika vajinalis ile birlikte döner. Sebebi gonadların intrauterin dönemde skrotuma göçü sürecinde, yapıların henüz tam olarak tutunamaması, gubernakulumun skrotum duvarına sabitlenmemesi olarak gösterilmektedir (Backhouse, 1982). Ortak bir kılıf içerisinde olmaları tüm yapıların birlikte torsiyone olmasına neden olur.

Yenidoğanlarda (vakaların %92'si) ve inmemiş testis öyküsü olanlarda en sık görülen tiptir (Docimo ve ark., 2013; Das ve ark., 1990). Tüm TT'lerin içerisinde %5-10 oranında görülür. Vakaların %72'si prenatal dönemde saptanırken, %28'i ise postnatal dönemde tanı almaktadır. Literatürde vakaların %5'inin bilateral olduğu bildirilmiştir (Djahangirian ve ark., 2010; Baglaj ve Carachi, 2007).

Multiparite, güçlü kremaster kasılmaları ve uterusun aşırı baskısının etyolojide rol aldığı bildirilmiştir. Klinik başvuru genellikle skrotumda veya kasıkta ağrısız, sert kitle ile olmaktadır. Skrotum cildinde ödem veya ekimoz görülebilir.

Ekstravajinal TT sonucunda sıklıkla testiküler atrofi gelişmektedir. "Vanishing testis" sendromunun en önemli nedenlerinden birinin ekstravajinal TT olduğu düşünülmektedir (Başaklar, 2006; Docimo ve ark., 2013). Tedavisi cerrahi olup, kontralateral testiste de oluşabilecek torsiyon riskini önlemek için kontralateral testiküler fiksasyon yapılması önerilmektedir (Hutson, 1998).



Şekil 2.7. Testis torsiyonunun sınıflandırması (Favorito ve ark, 2004'ten değiştirilerek kullanılmıştır.)

2.2.2.2. İnvajinal testis torsiyonu

İnvajinal TT'u tunika vajinalisin korda tutunduğu yerin distalinde torsiyon gelişmesi sonucu meydana gelir. Testis, tunika vajinalis içerisinde görece daha serbest bir konumda asılı bulunur ve böylece testisin torsiyone olması kolaylaşır.

Tunika vajinalisin bir poşet gibi testisi yukarıdan sarması ve testisin asılı halde bulunmasına çan tokmağı (Bell-clapper) deformitesi adı verilir ve testisin horizontal düzlemde durmasına yol açar (Docimo, 2013). Bu deformitenin invajinal testis torsiyonunun en önemli sebeplerinden biridir. Kremasterik kasılmalar ve ergenlikle birlikte testis hacminin görece hızlı artışı, testisin dönme riskini artırır (Başaklar, 2006; Docimo ve ark., 2013).

İnvajinal torsiyon, testis ile epididim arasındaki bağlantının yetersiz olması durumunda izole olarak sadece epididimde veya testiste gelişebilir (Murphy, 2003)(Şekil 2.7).

2.2.2.3. Testis kalıntıları torsiyonu

Epididim üzerindeki embriyolojik kalıntıların ve appendiks testisin torsiyone olmasıyla meydana gelen klinik tablodur. Çoğunlukla 16 yaşından küçük çocuklarda izlenir (Hutson, 1998). Tanıda yardımca olan klinik bulgular ani başlangıçlı şiddetli ağrı sonrası epididimin veya testisin üst kısmında ele gelen sert kitledir.

2.2.3. Tanı

Testis torsiyonunda ilk bulgu ani başlayan şiddetli skrotal ağrı olarak karşımıza çıkmaktadır. Ağrı genellikle tek taraflı olup, karın alt kadranelerine ve inguinal bölgeye yayılabildiği gibi, bulantı/kusma da eşlik edebilir (Ciftci ve ark., 2004). Fizik muayenede etkilenen testis hassas, büyümüş, sert ve torsiyon sonucu spermatik kordun kısılmasına bağlı olarak eleve ve horizontal konumda bulunur (Srinivasan ve ark., 2011). Kremasterik refleks kaybı olguların yaklaşık %90-100'ünde görülür ve %100 duyarlılığa ve %66 özgüllüğe sahiptir (Oh ve ark., 2015; Van Glabeke ve ark., 1999).

Testis torsiyonunda önemli fizik muayene bulgularından birisi de testisin elevasyonu ile ağrının şiddet gösterdiği Prehn bulgusudur. Torsiyone olmuş spermatik kordda elevasyon ile vasküler oklüzyon artış gösterir. Akut skrotumun diğer nedenlerinden olan epididimit ve orşitte ise tam tersine elevasyon ile ağrı azalma gözlenir (Karmazyn ve ark., 2005).

Testis torsiyonu sol testiste, sağ testise göre daha sık izlenmektedir. Sol spermatik kordun sağ tarafa göre daha uzun olmasının bu duruma yol açtığı düşünülmektedir (Fonkalsrud, 1987). Hastaların yaklaşık yarısında daha önce geçirilmiş skrotal ağrı anamnezi bulunmaktadır (Bourne ve Lee, 1975; Stillwell ve Kramer, 1986). Testis torsiyonu uyurken meydana gelebilirken, aktivite, egzersiz ve travma sonrası da görülebilmektedir (Noske ve ark., 1998).

Fizik muayene bulguları ve klinik anamnezde torsiyon şüphesi olan hastalarda yine muayene bulgularına dayalı TWIST (Testicular Workup for Ischemia and Suspected Torsion) skoru kullanılabilir. Skorlamada testiküler şişlik (2 puan), sert testis (2 puan), kremasterik refleksin olmayışı (1 puan), bulantı/kusma (1 puan) ve yüksek yerleşimli testisten (1 puan) oluşan muayene bulguları kullanılır. Torsiyon açısından (0-2) puan düşük riski, (3-4) puan orta riski ve (5-7) puan ise yüksek riski ifade eder. Literatürde bu skorlamayla vakaların %80'ine tanı konulabildiği bildirilmiştir (Barbosa ve ark., 2013).

Akut skrotum ile hastaneye başvuran hastalarda öncelikle testis torsiyonu dışlanmalıdır. Testis torsiyonu tanısı klinik şüpheyeye dayanmakla birlikte tanıya

yardımcı olarak en sık kullanılan non-invaziv, hızlı ve ekonomik test doppler ultrasonografidir (Melloul ve ark., 1995). Torsiyone olmuş testisteki ultrasonografik bulgular torsiyonun derecesi ve süresi ile ilişkilidir (Dalili ve ark., 2021). Erken dönemde vasküler tıkanıklıktan sadece venöz drenaj etkilenmesi nedeniyle arteriyel akım normal saptanabilir. İlerleyen süreçte ise testisin genişlemesi ve heterojenite kazanmasıyla ödematöz değişiklikler ve arteriyel obstrüksiyon izlenir (Kühn ve ark., 2016). Akut skrotal ağrının ayırıcı tanısında torsiyonu saptamada renkli doppler ultrasonografinin %98 özgüllük ve %88 duyarlılığa sahip olduğu bildirilmiştir (Baker ve ark., 2000).

Magnetik rezonans (MR) görüntüleme tanıda kullanılabilecek tetkiklerden biridir. Ancak hasta grubunun yaş ortalaması göz önünde bulundurulduğunda pediatrik hastalarda anestezi ihtiyacından dolayı tercih edilmemektedir (Wu ve ark., 2002).

Teknesyum-99m perteknetat radyonüklid sintigrafisi tanıda kullanılabilecek bir diğer yöntemdir. Torsiyone testiste iskemiye bağlı olarak radyonüklid tutulumu azalır ve fotopenik görünüm izlenir. Radyonüklid izotopların tutulumundaki bu azalma iskeminin süresine bağlı olarak değişmekle birlikte, sintigrafik kan akımı ilk 6 saatte normal izlenebilir (Noseworthy, 2000). Skrotal ağrının diğer nedenlerinden inflamasyon ve enfeksiyonda ise perfüzyonda artış görülür. Sintigrafi testis torsiyonu için yaklaşık olarak %100 duyarlılığa sahip olsa da nöbet şartlarına uygun olmaması, ultrasonografinin daha hızlı ve kolay bir tetkik olması nedeniyle tercih edilmemektedir (Ringdahl ve Teague, 2006).

2.2.4. Tedavi

Testis torsiyonu acil müdahale gerektiren ürolojik bir acildir. Cerrahi müdahale kaçınılmaz olup tedavi başarısı erken tanı ile ilişkilidir. TT için klinik şüphe olması halinde cerrahi eksplorasyon yapılmalı ve tanıya yardımcı tetkikler tedavinin gecikmesine neden olmamalıdır (Van Glabeke ve ark., 1999).

Testislerin canlılığını etkileyen en önemli iki parametreden birinin iskemi süresi olduğundan, manuel detorsiyonun denenmesi önerilir (Dias Filho ve ark., 2017). Manuel detorsiyon anestezi altında veya anestezisiz içtan dışa doğru, kitap açar şekilde

yapılır. Eğer ağrı şiddetlenirse diğer yöne detorsiyon yapılması değerlendirilmelidir. Başarılı detorsiyon, ağrının aniden ortadan kalkmasıyla kendini gösterse de doppler ultrasonografide kan akımının düzeldiğinin saptanmasıyla kesinleşir (Kiesling ve ark., 1984). Torsiyonun her zaman aynı yönde olmayacağı ve torsiyon derecesinin ne kadar olduğunun bilinmemesi gibi nedenlerden ötürü, hastanın ağrısında azalma olsa dahi cerrahi ekplorasyon ve orşiopeksi yapılması gerektiği unutulmamalıdır.

Ağrı başlangıcını takip eden ilk 4-6 saatlik süreçteki müdahale önemli olup atrofi nadir görülürken, 13 saate kadar olan erken müdahalede fertilitenin korunduğu bulunmuştur (Anderson ve ark., 1992). Semptomların başlangıcından itibaren 24 saati geçen olgularda ise cerrahi eksplorasyonun semi-elektif uygulanabileceği gösterilmiştir (Tryfonas ve ark., 1994; Visser ve Heyns, 2003). Leydig hücrelerinin germ hücrelerine kıyasla iskemiye daha toleranslı olması nedeniyle, son yıllarda atrofik testislerin de hormonal fonksiyonlarını devam ettirebileceği görüşü ön plana çıkmış ve orşiektomi uygulamaları azalmaya başlamıştır (Turner ve ark., 2005).

Cerrahi müdahalenin temel amacı; torsiyone testisi detorsiyone ederek orşiopeksi yapmaktır. Sadece inguinal veya skrotal (özellikle intravajinal torsiyonda) orta hat kesisi ile yapılabileceği gibi her ikisi birlikte de uygulanabilir. Cerrahi detorsiyon sonrası testis sıcak komprese sarılarak yaklaşık 20 dakika beklenir ve testiküler kan dolaşımının geri dönmesi gözlenir. Gerekirse tunika albuginea'ya yapılan küçük bir insizyon ile baskı altındaki ödemli testis kompartman sendromu gelişmemesi için rahatlatılabilir (Figueroa ve ark., 2012). Etkilenen testiste reperfüzyon bulguları izlenmez, berlirgin şekilde nekroz gelişmişse orşiektomi yapılır (Anderson ve Williamson, 1988).

Orşiopeksi, tunika vajinalise birkaç adet separe şekilde sütür konularak yapılabilir. Bazı cerrahlar ise tunika vajinalisin insizyonu sonrası evert edilmesi ve tunika albugineanın 3/0 emilebilir sütür ile skrotum iç duvarına tespit edilmesi yöntemini kullanabilmektedir (Başaklar, 2006; Docimo ve ark., 2013). Testiküler fiksasyon için hangi teknik veya sütür materyalinin kullanılması gerektiği hakkında fikir birliği bulunmamaktadır (Mor ve ark., 2006).

Yenidoğanlarda torsiyon belirtilerinin süresi net olmadığından, çocuğun genel durumuna bağlı olarak acil cerrahi eksplorasyon değerlendirilir. Eğer belirtiler yeni başlamışsa beklemeksizin daha büyük çocuklarda olduğu gibi kontralateral fiksasyonu da içeren orşidopeksi ve eksplorasyon yapılmalıdır.

2.3. İskemi/Reperfüzyon Hasarı, Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

2.3.1. İskemi ve Hipoksi

İskemi, vasküler perfüzyonun azalması ya da tamamen ortadan kaybolmasıyla; başta oksijen ve glikoz olmak üzere diğer besin maddelerinin hücrelere geçişinin ve metabolizma yıkım ürünlerinin uzaklaştırılmasının azalması durumudur (Wu ve ark., 2018).

Hipoksi, herhangi bir nedenle periferik dokuda yetersiz düzeyde oksijen konsantrasyonu bulunmasıdır. Arteriyel kan akışı engellendiğinde dokuda hipoksi meydana gelir ve perfüzyonun bozulması nedeniyle de hücre için gerekli metabolitlere erişim sağlanamaz. Oksijen düzeyinin hücrelerin metabolik ihtiyaçlarını karşılayamayacak kadar azalması, enerji depolarının azalmasına ve toksik metabolizma ürünlerinin birikmesiyle sonunda hücre ölümüne yol açar (Krarup, 1978).

İskemide intrasellüler oksijen konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak mitokondriyal oksidatif fosforilasyon bozulur ve neticesinde adenosin trifosfat (ATP) üretiminde azalma meydana gelir. Hücredeki enerji bakımından zengin fosfat depoları (ATP gibi) tükenir ve ATPaz aktivitesi azalır. Hücrelere ulaşan substrat miktarındaki azalma ve hücreden atılması gereken metabolitlerin birikimi nedeniyle glikoliz inhibe olur. Hücre membranındaki ATP bağımlı sodyum-potasyum pompalarında (Na-K-ATPaz) işlev bozukluğu ortaya çıkar ve ribozomların ayrılması (Ca²⁺-ATPaz pompası nedeniyle) tetiklenir (Ornellas ve ark., 2017). Hücre içerisinde sodyum birikirken, hücre dışına potasyum atılmı olur. Sodyum birikimi nedeniyle hücre içerisine su girişi olur ve akut hücresel şişme gözlenir. Oksidatif fosforilasyon olmadığından bu süreçte glikojen depoları harcanır ve laktik asit birikimi nedeniyle de hücre içinde asidoz meydana gelir. Hücreden uzaklaştırılamayan karbondioksit (CO₂) birikerek karbonik asit (H₂CO₃) oluşturur ve asidoz tablosunu derinleştirir (Kumar ve ark.,

2007). Azalan ATP nedeniyle kalsiyum pompalarındaki bozulma hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) seviyesinde artışa neden olur. Granüllü endoplazmik retikulumdan (GER) ribozomlar ayrışmaya başlar ve protein sentezi de azalır. Ca^{+2} artışı proteolitik enzimleri ve fosfolipazları aktive eder. Fosfolipaz aktivasyonu ile meydana gelen araşidonik asitin serbest radikal oluşumunda direkt etkisi bulunur. Hücre membran geçirgenliği bozulur ve hücre içine giren Ca^{+2} miktarı artar.

Hücre içi pH'ın düşerek asidikleşmesi, lizozom membranlarının hasar görerek hücre içine proteolitik enzimlerin salınmasına, nihayetinde sitoplazmik yapıların ve çekirdeğin lizisine neden olur (Kumar ve ark., 2007).

2.3.2. İskemi/Reperfüzyon Hasarı

İskemi ile meydana gelen doku hasarına reperfüzyon ile birlikte daha fazla hasar eklenir. Reperfüzyon ile birlikte oksijenin hasarlı dokuya ulaşmasıyla buradaki endotel, parankim hücreleri ve nötrofillerce üretilen reaktif oksijen türevleri (ROS) ve lokal inflamasyon ikincil hasarlara neden olur. ROS hücre membranında lipid peroksidasyonuna neden olarak, protein denatürasyonu ve hücre yıkımına neden olur (Ünsal ve ark., 2004).

Toplam doku hasarının şiddetine göre hücre yanıtı değişiklik gösterir (Lopez-Neblina ve ark., 2005). İskemi/reperfüzyon süresi uzadığında hücrede otofaji, apoptoz, nekroz veya nekroptoz görülebilir (Ling ve ark., 2017). Süre daha kısa olduğunda ise hücre onarım ve koruma mekanizmalarının devreye girmesiyle ROS oluşumu ve hücre hasarı kontrol edilebilir (McCully ve ark., 2004).

2.3.3. Oksidatif Stres

Vücutta üretilen serbest radikaller ve zararlı etkilerinin ortadan kaldırılması, oksidatif denge adı verilen denge içindedir (Serafini ve Del Rio, 2004). Bu denge olduğu müddetçe, serbest radikallerin olumsuz etkilerinin vücutta görülmesi engellenir. Serbest radikallerin lehine dengenin bozulması halinde doku hasarı ortaya çıkar ve bu duruma oksidatif stres adı verilir (Yan ve ark., 2009).

Oksidatif hasar ile dokuda meydana gelen patolojik ve mekanik değişimler, açığa çıkan nitrojen ve oksijen ürünleri hücrede sinyal değişikliklerine neden olur. Serbest radikaller, nitrik oksit ve zararlı ürünleri, hidrojen peroksit, süperoksit anyonları ve hidroksil radikalleri oluşumuna yol açar. Hücre membranı ve mitokondriyel membranlardaki lipid yapıların peroksidasyonu sonucu membran yapısı bozulur ve geçirgenliği değişir. Lizozomal enzimlerin de etkisiyle protein denatürasyonu ile başlayan süreç DNA hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanır (Wilhelm Filho ve ark., 2004).

Reperfüzyon, iskemik dokuya gelen arteriyollerde fonksiyon bozukluğuna neden olur. Endotel bağımlı dilatasyon mekanizmasının hasar görmesine, kapiller tıkaçlarının oluşumuna ve buna bağlı olarak sıvı filtrasyonunda artışa neden olur. Postkapiller venüllerde plazma proteinlerinin damar dışına sızmasıyla mikrovasküler denge bozulmaya başlar (Zimmerman ve Granger, 1992).

2.3.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron (e^-) çifti bulunduran, bu nedenle oldukça kararsız olan yüksek enerjili atom ya da moleküllerdir. Dış yörüngelerindeki elektronu eşleyebilmek için diğer moleküllerle tepkimeye girme yarışı içerisinde bulunurlar (Heys ve Dormandy, 1981). Elektronlarını yörüngelerinde çiftler halinde bulunduran molekül veya atomlar ise nispeten daha kararlı halde bulunurlar ve diğer molekül veya atomlarla serbest radikaller ile kıyasla daha az reaksiyona girme eğilimi gösterirler. Bu nedenle kararlı yapıda, eşlenmemiş elektronu bulunmayan, diğer moleküllerle serbest radikallerden daha zayıf bir şekilde reaksiyona giren moleküller nonradikaller olarak adlandırılır (Valko ve ark., 2007).

Tablo 2.1. Reaktif oksijen türleri (Valko ve ark., 2007'den kullanılmıştır)

Radikaller		Nonradikaller	
Süperoksit	O_2^-	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Hidroksil	OH^-	Hipokloröz asit	$HOCl$
Peroksil	ROO^-	Hipobromöz asit	$HOBr$
Alkoksil	RO^-	Singlet oksijen	1O_2
Hidroperoksil	HO_2^-	Ozon	O_3
Lipid peroksil	LOO^-		

Tablo 2.2. Reaktif nitrojen türleri (Valko ve ark., 2007’den kullanılmıştır)

Radikaller		Nonradikaller	
Nitrik oksit	NO^-	Nitrik asit	HNO_2
Nitrojen dioksit	NO_2^-	Nitrosil katyonu	NO^+
		Nitrosil anyonu	NO^-
		Dinitrojen tetroksid	N_2O_4
		Dinitrojen trioksit	N_2O_3
		Peroksinitrit	ONOO^-
		Peroksinitrik asit	ONOOH
		Nitronyum katyonu	NO_2^+
		Nitril klorid	NO_2Cl
		Alkil peroksinitrit	ROONO

Serbest radikallerin kaynağı oksijen ya da nitrojen olabilir. Oksijen kaynaklı ise ROS ve nitrojen kaynaklı ise reaktif nitrojen türleri (RNS) şeklinde adlandırılır (Valko ve ark., 2007) (Tablo 2.1 ve Tablo 2.2).

Serbest radikaller insan vücudunda metabolizmanın normal işleyişinde stres, çevresel faktörler ve radyasyon etkisiyle meydana gelebilir (Poprac ve ark., 2017)(Tablo 2.3). Düşük yoğunlukta bulunduklarında yararlı etkilerinden bahsetmek mümkündür. Birtakım hücresel yanıtı karşı fizyolojik olarak hücresel fonksiyonun yerine getirilmesinde, hücrede H_2O_2 , NO ve O_2^- üretimi meydana gelebilir. ROS ve RNS’lerin fagositoz aracılı enfeksiyöz etkenlere karşı savunma, kanser hücrelerinin sitotoksik lenfositler ve makrofajlar aracılığıyla öldürülmesi, ksenobiyotiklerin sitokrom p450 ile detoksifikasyonu, mitokondriyel ATP üretimi, hücre büyümesi ve düşük titrelerde mitojenik yanıtlara neden olması yararlı/fizyolojik etkileri olarak gösterilebilir (Karabulut ve Gülay, 2016).

Tablo 2.3. Serbest radikallerin eksojen ve endojen kaynakları (Poprac ve ark., 2017’den kullanılmıştır.)

Endojen Kaynaklar	Ekzojen kaynaklar
• Araşidonik asid döngüsünün • Egzersiz • Endojen bileşiklerin otooksidasyon • Fagositik hücreler • Kloroplast elektron transport zinciri • Mikrozomal elektron transport zinciri • Mitokondriyel elektron transport • Oksidan enzimler • Oksidatif stres • Plazma membranı • Peroksizomlar • Proteinler • Transizyon metalleri	• Anestezikler • Çözücüler • Egzoz gazları • Glutasyonu okside eden • Güneş ışığı (UV) • Isı şoku • İlaçlar • İyonize radyasyon • Kirleticiler • Metal iyonları • Ozon • Sigara dumanı • X- ışını

Serbest radikaller zararlı etkilerini hücre için hayati öneme sahip birden çok mekanizma üzerinden gösterebilir. Oksidatif stres hallerinde, serbest oksijen radikali (SOR) oluşumu artarak antioksidan kapasiteyi aşar. Yapısı itibarıyla serbest radikallere en duyarlı moleküller lipidlerdir. Lipid peroksidasyonu, kolesterol ve poliansatüre yağ asitlerince zengin hücre membran yapısı, membran akışkanlığı ve geçirgenliği bozulur. Karbon radikalleri meydana getirir ve ardından oksijen ile reaksiyona girmesiyle lipid peroksil radikallerini ($LOO^{\cdot}$) oluşturur. Oluşan radikaller daha fazla lipid ile reaksiyona girerek lipid peroksit sayısını artırır (Sarma ve ark., 2010; Valko ve ark., 2007). Bu reaksiyonlar sonucu meydana gelen toksik etkili son ürünlerden biri de malondialdehit (MDA) olup, zarları geçebilmesi ve uzun ömürlü olmasıyla hedef organ hasarında anahtar rol oynar. Yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu monooksijenaz sistemi, solunum ve mitokondriyal işlevler, protein sentezi gibi fonksiyonlar inhibisyona uğrar ve hücre ölümüne sebep olur (Dündar ve Aslan, 1999; Valko ve ark., 2007). MDA düzeyi, uzun ömürlü ve zarları geçebilmesi nedeniyle lipid peroksit seviyesini saptamada kullanılır (Buege ve Aust, 1978).

ROS ve RNS'ler DNA ile etkileşim göstererek oksidatif hasara neden olur. DNA'nın moleküler yapısı $OH^{\cdot}$ gibi radikallere oldukça duyarlıdır. Serbest radikaller girdikleri reaksiyon sonucunda DNA yapısında bulunan şeker parçalarından H^+ kaybına ya da eklenmesine yol açabilir. Primidin yapısındaki C4-C5 çift bağı $OH^{\cdot}$ radikaline karşı çok hassastır. Benzer hassasiyet pürinlerde de görülmektedir. Serbest radikaller ayrıca poli sentetaz enzimini (ADP-riboz) aktive eder. Aktive olan poli sentetaz DNA parçalanmasına ve programlı hücre ölümüne yol açar (Devesagayam ve ark., 2003; Karabulut ve Gülay, 2016; Sarma ve ark., 2010).

2.3.5. Antioksidanlar

ROS oluşumunu engellemek ya da var olan oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarları önlemek veya detoksifikasyonunu sağlamak amacıyla görev alan maddelere antioksidan adı verilir. Endojen (enzimatik ve non-enzimatik) ve eksojen (ilaçlar ve vitaminler) olarak iki ana gruptan oluşan antioksidanlar etkilerini başlıca dört farklı şekilde gösterirler (Doğan, 2014)(Li, 2022)(Tablo 2.4):

- Onarıcı etki: Serbest radikallerin etkisiyle meydana gelen hasarın onarılması (Virág ve Szabó, 2002; Xu ve ark., 2022)(Örn; PRP, hyalüronik asit)
- Toplayıcı etki: SOR'ların tutulması veya yeni bir moleküle dönüştürülerek etkilerinin zayıflatılması (Örn; Trakeobronşial mukus) (Karihtala ve Saini, 2007).
- Uyarıcı etki: Serbest radikallerle girdikleri reaksiyon sonucu serbest radikallere H⁺ iyonu vererek inaktif bileşiklere dönüştürme veya aktivitelerini azaltma yöntemidir (Örn; vitaminler) (Cherubini ve ark., 2008).
- Zincir kırıcı etki: Serbest oksijen radikalının bağlanması sonucu zincirlerinin kırılması ve fonksiyonlarının engellenmesi (Örn; seruloplazmin, hemoglobin) (Mickle ve Weisel, 1993).

Tablo 2.4. Antioksidanların sınıflandırılması (Karabulut ve Gülay, 2016; Sen ve Chakraborty, 2011'den kullanılmıştır.)

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Enzimatikler	Nonenzimatikler	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Koenzim-Q 10
Katalaz (CAT)	Melatonin	Selenyum
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürikasit	α- lipoik asit
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Transferrin
	Albumin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
Vitaminler	İlaç olarak kullanılanlar	
α-Tokoferol (Vit. E)	Ksantin oksidaz inhibitörleri	
β-karoten (Vit. A)	NADPH oksidaz inhibitörleri (lokal anestezikler, adenozin,	
Askorbik asit (Vit. C)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Folik asit (Vit. B9)	Trolox-C (Vit. E analoğu)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GPx akt. artıran	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (albümin, mannitol)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferoksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Sitokinler (IL-1 ve TNF)	
	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	

2.4. Plateletten Zengin Plazma

Plateletler, kemik iliğinde öncül hücreleri olan megakaryositler tarafından üretilir ve plazma konsantrasyonu sağlıklı bir insanda 150.000- 400.000 / µl'dir (Wroblewski ve ark., 2010). Matür megakaryositlerin stoplazmik uzantıları gibi oluşan proplateletler,

megakaryositten ayrılarak çekirdekleri olmadan dolaşıma katılırlar. Bir megakaryositten ortalama 5000-10000 platelet meydana gelebilir. İnsan kanında ortalama $150-400 \times 10^9 / L$ oranında bulunur (Ghoshal ve ark., 2015). Plateletlerin ömrü 5-9 gün olup, kan dolaşımında tüm plateletlerin 2/3'ü bulunurken, dalakta 1/3'ü bulunur (Freynhofer ve ark., 2015).

Koagülasyon kaskadında önemli yere sahip olan plateletler, aynı zamanda vasküler düzenleme, doku hasarı tamiri ve organ rejenerasyonunda görev alan sitokinler ve büyüme faktörlerini de içerir. İçlerinde yer alan alfa granüller, 30 çeşide yakın inaktif büyüme faktörü yanında sitokinlerin de deposudur. Ayrıca osteokalsin, osteonektin, fibrin, vitronektin, fibronektin ve trombospondin gibi ekstrasellüler matriks elemanlarını da içerirler (Nurden ve ark., 2008; Grageda, 2004). Trombin benzeri proteinlerin etkisiyle plateletler ayrışır ve bu faktörler açığa çıkarlar (Carter ve ark., 2003).

PRP, otolog bir kan ürünü olup hayvan veya insan tam kanından elde edilir. 1970'li yıllarda birden fazla bileşeni olan kan ürünlerinin bir yan ürünü olarak geliştirilmiştir. 1990' lı yıllarda ise içerdiği bazı ürünlerin iyileşmede rol aldığı, yara üzerine konsantre edilerek uygulandığında iyileşmenin normalden daha hızlı gerçekleştiği fark edilmiştir (Nisbet, 2007). Klinikte kullanım amacı, normal fizyolojik konsantrasyonun üzerinde büyüme faktörü salınımı elde edilerek, doku hasarını indirekt ve direkt yollarla hızlandırmaktır. Bunlara ek olarak, farklı türlerde antioksidan enzimlerin salınımı üzerinde etki göstererek, oksidatif stresi ve reaktif oksijen ürünlerinin oluşumunu azaltır (Sekerci ve ark., 2017; Martins ve ark., 2016).

2.4.1. PRP içeriği ve etki mekanizmaları

Platelet Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF): Yara iyileşmesi, embriyonel dönemde hücre farklılaşması ve proliferasyonu, migrasyon ve anjiyogenez için önemli bir role sahiptir (Heldin ve ark., 1999). Bağ dokusu hücreleri (gliya, fibroblast, düz kas hücreleri) üzerinde mitojenik etkisi bulunur (Andrae ve ark., 2008; Heldin et al., 1999). Son dönemlerde 4 farklı izotipi bulunmuş ve farklı hücre tiplerindeki lokal etkileri gösterilmiştir (Kazlauskas, 2017).

Temel Fibroblast Büyüme Faktörü (bFGF): Bilinen 23 farklı FGF izotipinden biridir ve FGF2 olarak da bilinmektedir. Hücre göçü ve hücre proliferasyonunda görev alarak anjiyogeneze etkilidir (Yun ve ark., 2010). Düz kas ve makrofajlar başta olmak üzere birçok farklı hücre tipi için ekstrasellüler mitojenik etkisi bulunmaktadır (Parma ve ark., 2020).

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF): Fibroblastlar ve epitel hücreleri üzerinde mitojenik etkileri olup, proliferasyonu uyarak reepitelizasyonda etki gösterir. Satelit hücrelerde proliferasyon fazında antiapoptotik etkileri olduğu gösterilmiştir (Golding ve ark., 2007). Bunun yanında bazı çalışmalarda EGF'nin kas türevi kök hücrelerin mitotik aktivitesini artırdığını gösterilmiştir (Deasy ve ark., 2002).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF): Endotel hücrelere karşı mitojenik etkisi bulunur. İnflamasyon, hipoksi veya büyüme faktörleri gibi fizyolojik uyarıların etkisiyle salınarak anjiyogenezi başlatır (Ferrara N, 2004). İn vitro çalışmalarda myoblast hücrelerinin migrasyonu ve sağ kalımı üzerinde etkili olduğu, myojenik hücrelerde apoptotize karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Germani ve ark., 2004).

Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta 1 ve 2 (TGF- β 1 ve TGF- β 2): Yara iyileşmesinde görülen tüm evrelerde, reepitelizasyonda ve anjiyogeneze etkilidir (Barrientos ve ark., 2008). Hücre dışı matriks üretimini stimüle eder ve mezenkimal kök hücre proliferasyonunu uyarır. PDGF ve diğer büyüme faktörlerinin etkilerine yardımcı olur. Endotelyal kemotaksisi uyarır ancak lenfosit ve makrofaj proliferasyonunu inhibe eder (Roberts ve ark., 1985).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 ve 2 (IGF-1 ve IGF-2): Çocukluk döneminde büyüme ilgili esas rol oynamakla birlikte yetişkinlik döneminde anabolik metabolizma üzerine etkilidir (Haugk ve ark., 1995). Osteoblastlar üzerinde etki göstererek büyüme ve farklılaşmasını sağlamakla birlikte kondroblastik metabolizmayı düzenler (Grageda ve ark., 2004).

Bahsedilen trombosit büyüme faktörleri, özgün etkilerinin yanında diğer büyüme faktörleriyle de ilişki içindedir ve gen ekspresyonunu stimüle etmek ve protein üretimini artırmak üzere de etki gösterirler (Khadiji ve ark., 2020).

2.4.2. PRP hazırlama yöntemleri

PRP, otolog bir kan ürünü olup hastanın kendi kanından hazırlanmaktadır. PRP içerisinde bulunması gereken platelet adedi hususunda net bir fikir birliği bulunmasa da, tedavi etkinliği açısından konsantrasyonunun yaklaşık olarak 1,000,000 / μ l 'nin üzerinde olması gerektiği belirtilmektedir (Marx, 2001; Weibrich ve ark., 2002)

PRP elde etmek için kullanılabilecekler metodlar (Sağnak Akıllı, 2018):

- ✓ Laboratuvar da kanın santrifüj edilmesinin ardından manuel olarak PRP'nin ayrıştırılabildiği tek çevirmeli konvansiyonel metod
- ✓ Otomasyon makineler ve ticari kitler aracılığıyla hazırlanan çift çevirmeli metod
- ✓ Ticari teknolojilerle kanın filtre edilmesi metodu

Tek çevirmeli yöntem ile platelet konsantrasyonu normalin 1-3 katı kadar elde edilebilirken, çift çevirmeli yöntemde normal platelet konsantrasyonunun 5-8 katına ulaşılabilir. Ayrıca istenilen miktarda PRP elde etmek için çift çevirmeli yöntemde tek çevirmeli yöntemle göre daha miktarda kana ihtiyaç duyulur. Çift çevirmeli yöntem ile tam kanın 1/10'u kadar PRP elde edilebilmektedir (Mei-Dan ve ark., 2010).

PRP hazırlamak için uygulanması gereken santrifüj süresi ve hızı hakkında ortak bir görüş bulunmamaktadır. Araştırmacılar tarafından fikir birliği sağlanan nokta, koagülasyonun önlenmesi amacıyla sodyum sitrat (Samy ve ark., 2020) ve sitrat dekstroz fosfat (ACD-A) (Carter ve ark., 2003) bulunan tüplere tam kanın alınması ve ilk olarak düşük devirde uzun süre, ardından yüksek devirde kısa süre santrifüj uygulanmasıdır. İlk santrifüj eritrositleri ayırmak içindir ve geri kalan tüm plazma ve buffy-coat toplanıp ayrı bir tüpe alınır. Ardından ikinci santrifüj yapılır ve üstte kalan plateletten fakir plazma uzaklaştırılarak PRP elde edilir (Şahin ve ark., 2004). Uygulama öncesi aktivasyon amacıyla otolog trombin veya %10'luk kalsiyum klorit

kullanımını öneren çalışmalar olsa da standart bir uygulama bulunmamaktadır (Wasterlain ve ark., 2012).

2.4.3. PRP kullanım alanları

- Nöroşirurji: İntrakraniyel cerrahilerde duramater bütünlüğünün bozulduğu operasyonlarda duranın kaptılması sırasında sızdırmazlık sağlar (Buza, 2005).
- Oral ve maksillofasiyel cerrahi: PRP'nin jel formu çelitli implantların uygulanabilmesi için kemik gelişimini hızlandır, dental implantlarda kullanılır (Buza, 2005; Lecovic ve ark., 2003).
- Plastik cerrahi: Deri greftlerinin verici ve alıcı bölgelerine, kemik greftlerinde, doku genişletilmesinde, mammoplastide, metal implantlarda ve rekonstrüksiyonlarda, kronik diyabetik ülser tedavilerinde PRP jel formu kullanılır (Buza, 2005; Man ve ark., 2001).
- Üroloji: Retropubik radikal prostatektomi sonrası erektil disfonksiyon ve inkontinans tedavisinde, kadın stres inkontinansında, üretral patoloji ve cerrahilerinde, testiküler patolojilerin tedavisinde, ağrılı mesane sendromlarında (Khadivi ve ark., 2020; Lee ve ark., 2021; Rezaei ve ark., 2019; Trama ve ark., 2021).
- Ortopedi ve travmatoloji: Kalça ve diz protez operasyonları, el ve ayak cerrahisi, açık ve internal fiksasyon cerrahileri, laminektomi, spinal füzyon ve disk operasyonlarında doku rejenerasyonunu hızlandırmak ve postoperatif kanamayı azaltmak için kullanılır (Buza, 2005).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanlarının Temini, Bakımı ve Deney Grupları

3.1.1. Deney hayvanlarının temin edilmesi

Çalışmamız Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 01/06/2022 tarih ve 33 sayılı etik kurul kararı sonucunda gerçekleştirildi. Deneysel testis torsiyon modeli ve İVF için deney hayvanları Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Uygulamaları ve Araştırma Merkezi'nden (SÜDETAM) temin edildi. Cerrahi işlemler için SÜDETAM laboratuvarı kullanıldı. İVF işlemleri ve histopatolojik incelemeler ise Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapıldı.

3.1.2. Deney hayvanları ve bakım

Deney grupları için fertilizasyon yeteneği kazandığı bilinen on iki hafta yaşında, 253 – 308 gr ağırlığında 48 adet erkek, PRP hazırlanması için aynı özelliklerde 2 adet erkek ve İVF için gerekli oosit temininde kullanılmak üzere yirmi dört hafta yaşında, 322 – 358 gr ağırlığında 12 adet dişi Wistar Albino sıçan kullanıldı (Ghasemi ve ark., 2021).

Tüm deney hayvanları, operasyon öncesi ve sonrası dönemlerde Sakarya Üniversitesi Hayvan Laboratuvarında, 12 saatlik gece/gündüz döngüsünde, $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında ve $50 \pm 5\%$ nemli ortamda ad libitum yem ve su ile gruplar halinde barındırıldı (Budak ve ark., 2022).

3.1.3. Deney grupları

Çalışmada kullanılan erken sıçanlar her grupta 8 adet olmak üzere rastgele 6 gruba ayrıldı. 2 erkek sıçan PRP hazırlamak amacıyla ayrıldı. Fertilizasyon yeteneği kazandığı bilinen 12 adet dişi sıçan ise cerrahi prosedürler sonrası elde edilen spermler ile İVF yapılması amacıyla oosit toplamak üzere ayrıldı. İVF yapılması için gruplardaki her bir erkek rat başına 5 adet oosit kullanılması planlandı. Tüm cerrahi uygulamalar genel anestezi altında yapıldı.

- Grup 1 – Sham grubu (S, n=8)
- Grup 2 – İskemi grubu (İ, n=8)
- Grup 3 – 4 saatlik İskemi/Reperfüzyon (İ/R, n=8)
- Grup 4 – Sham + PRP grubu (S + PRP, n=8)
- Grup 5 – İskemi + PRP grubu (İ + PRP, n=8)
- Grup 6 – 4 saatlik İskemi/Reperfüzyon + PRP grubu (İ/R + PRP, n=8)
- PRP hazırlama grubu (n=2)
- Dişi rat grubu – İVF için gerekli oosit temini (n=12)

3.2. Anestezi

Deney süresince tüm cerrahi işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. Cerrahi anestezi derinliğini sağlamak amacıyla disosiyatif anestezik ilaç olan 50 mg / kg% 10 ketamin hidroklorür (Ketalar; Eczacıbaşı Warner- Lambert İlaç Sanayi, Levent, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal (i.p.) yoldan, sedatif ve düz kas gevşetici olarak 7 mg / kg % 2 ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer Şişli, İstanbul, Türkiye) i.p. yoldan uygulandı (İlgen ve ark., 2020; Sekerci ve ark., 2017). Postoperatif analjezi için 0,2-1 mg/kg butorphanol (Butomidor, Richter Pharma AG) subkütan (s.c) olarak 4 gün boyunca günde 4 kez uygulandı.

3.3. PRP Hazırlanışı ve Platelet Konsantrasyonu

PRP, insanlarda otolog olarak hazırlanıp kullanılan bir kan ürünüdür. Ancak deney gruplarındaki her bir sıçan için kuyruk veninden alınacak kan miktarı PRP hazırlamak için yetersiz olacağından Sekerci ve arkadaşlarının (Sekerci ve ark., 2017) uyguladığı yöntem kullanıldı. Aynı cins, yaş ve cinsiyet grubunda farklı sıçanlardan intrakardiyak yol ile alınan 20 ml kanın 2 ml'si tam kan sayımı yapılması amacıyla etilen diamintetraasetik asit (EDTA)'lı tüpe alındı. Geriye kalan 18 ml kan ise PRP hazırlanması amacıyla ayrıldı.

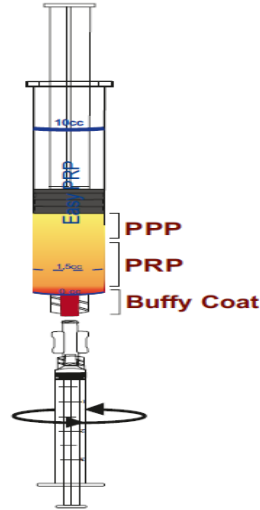


Resim 3.1. PRP hazırlığı için kullanılan ticari kit

PRP için ayrılan 18 ml kan, ticari PRP kitinin (Easy-PRP Kit 10, Neotec Biyoteknoloji San. ve Dış Tic. Ltd. Şti., Türkiye) içerdiği tek kullanımlık PRP hazırlama tüpüne alındı (Resim 3.1). Ticari kitin hazırlama talimatına uygun olarak iki ayrı PRP kitine öncesinde pıhtılaşmayı önlemek için 1,5 cc %3.2'lik sodyum sitrat (Merck, Darmstadt, Germany) eklenerek her bir tüp 10 cc'ye tamamlandı. Ticari kitin talimatlarına uygun olarak uygun cihazda (Nuve, NF-800-R Model, Ankara, Türkiye) 5 dakika 1200 rpm'de santrifüj edildi (Resim 3.2). Eritrosit rezervuarı olan alt hazne çıkarıldı ve sıfır çizgisine kadar kırmızı kan hücleri boşaltıldı. Ardından talimatlara uygun olarak ikinci kez 1200 rpm 10 dk santrifüj uygulandı. Plateletten fakir plazma (PPP), plateletten zengin plazma ve buff coat olmak üzere üç kısma ayrılan kanın alt 1/3' lük kısmı ticari kitin uygulama enjektörüne alındı (Şekil 3.1). PRP içerisindeki 1950×10^3 platelet/ μ l'lik platelet konsantrasyonu, tam kandaki platelet konsantrasyonundan (580.000 platelet/ μ l) 3,3 kat yüksek saptandı. Hazırlanan PRP, bekletilmeden sham + PRP grubuna, iskemi + PRP grubuna 4 saatlik iskemi sonrası ve İ/R + PRP grubuna detorsiyondan hemen sonra intratestiküler uygulandı.



Resim 3.2. Santrifüj cihazı



Şekil 3.1. İkinci santrifüj sonrası elde edilen PRP konsantrasyonlarının şematik gösterimi (Easy-PRP tiracı kitinin kullanım klavuzundan değiştirilerek kullanılmıştır.)

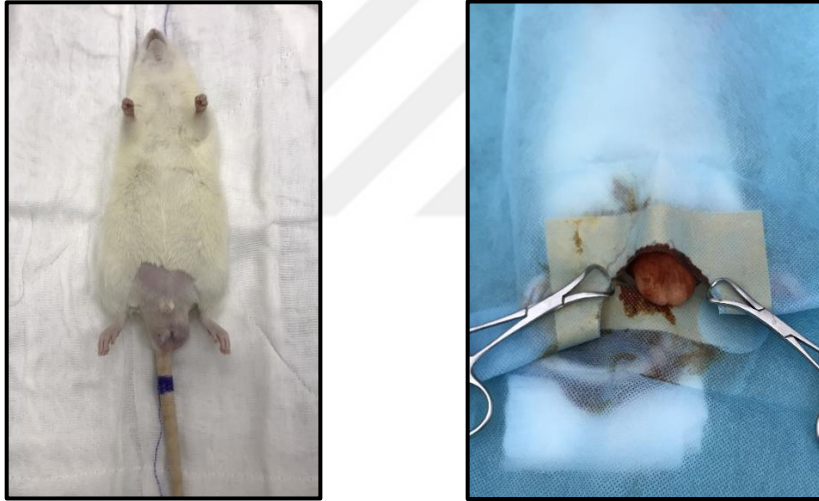
3.4. Deney Modeli

3.4.1. Cerrahi işlem

Anestezi altına alınan sıçanlar skrotal bölge tüyleri traş edilerek supin pozisyonuna alındı. Traş edilen bölgeleri %10'luk Povidon iyot (Konix, Turkuaz Sağlık Hizmetleri, Medikal, Temizlik, Kimyasal Ürünler San. ve Tic. A.Ş., Türkiye) dezenfekte edildi (Resim 3.3). Sağ hemiskrotum vertikal 1 cm'lik insizyon ile açılarak testise ulaşıldı. Sağ testis, epididim ve kord dışarı alındı. Testis çevresindeki

yapışıklıklar diseke edilerek testis serbestleştirildi. Ardından kontrol gruplarında (grup 1 ve 4) bu yapıların 1 dk gözlemlenmesinin ardından batın katları non-travmatik 4/0 nylon ile kapatıldı. Gruplardan iskemi yapılacaklara (2, 3,5 ve 6. Gruplar), tek taraflı (sağ) testis iskemisi yapıldı. Bu prosedür sağ testis ve spermatik kord bükülerek saat yönünde 720 derece döndürülmesi ve ardından 4/0 nylon sütürlerle iki noktadan subkütan dokuya sabitlenmesi şeklinde yapıldı. Skrotum cildi kapatılarak 4 saatlik bekleme süresi sonrası ek anestezi dozları uygulanarak belirlenen prosedürler uygulandı ve testisler anatomik pozisyonuna tekrar yerleştirilerek skrotum cildi 4/0 nylon sütür ile devamlı kapatıldı.

28 günlük bekleme süresi sona erdikten sonra, ratların yaşı on altı haftalık olduğunda anestezi altındaki ratların eski insizyon bölgelerinden girilerek sağ testis ve sağ epididim eksize edildi.



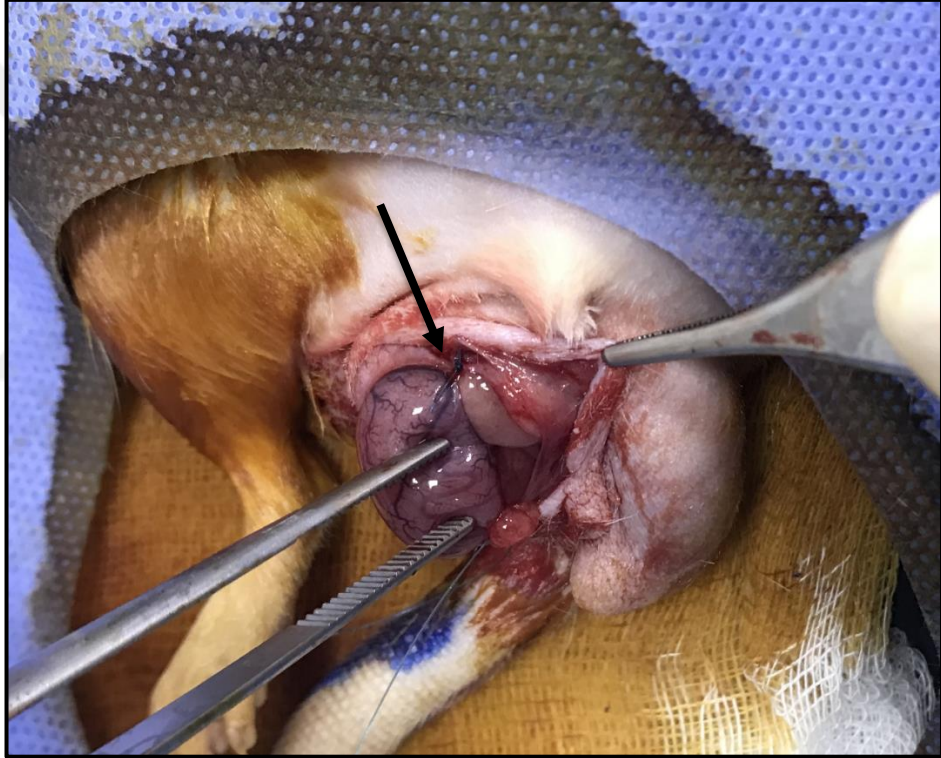
Resim 3.3. Anestezi altına alınan ratların cerrahi işlem için hazırlanışı

Grup 1 (Sham grubu): Bu gruptaki sıçanların sağ hemiskrotumdan yapılan cilt insizyonu sonrası sağ testisi dışarı alındı. Yapıların bir dakika gözlenmesinin ardından katlar 4/0 nylon ile kapatılarak ameliyat sonlandırıldı. 28 gün sonra sıçanlara sağ orşiektomi uygulandı.

Grup 2 (İskemi grubu): İskemi grubundaki sıçanların skrotum cildi açılarak sağ testis, epididim, spermatik kord ve elemanları serbestleştirildi. Sağ testisleri saat yönünde 720° döndürülerek torsiyone edildikten sonra skrotal kese içerisine 4/0

nylon sütür ile tespit edildi. 28 gün sonra cilt insizyonu açılarak sağ orşiektomi uygulandı.

Grup 3 (İskemi/Reperfüzyon grubu): Bu gruptaki sıçanların da sağ testisleri 720° saat yönünde torsiyone edildikten sonra skrotal kese içerisine 4/0 nylon sütür ile tespit edildi. Skrotum cildi 4/0 nylon sütür ile geçici olarak kapatılarak 4 saatlik iskemi süresi boyunca ek anestezi dozlarıyla sıçanlar uyutuldu. 4 saatlik iskemi sonrası tespit dikiş i alındı ve detorsiyon işlemi uygulandı (Resim 3.4). Yapılar anatomik pozisyonuna yerleştirilerek skrotum katları tekrar 4/0 nylon ile kapatıldı. 28 gün sonra sağ orşiektomi uygulandı.



Resim 3.4. Sağ testisin torsiyone edildikten sonra detorsiyon işlemi amacıyla skrotumun yeniden açılması (Ok ile gösterilen yerde tespit str izlenmekte)

Grup 4 (Sham + PRP): Bu gruptaki sıçanların sağ hemiskrotumdan yapılan cilt insizyonu sonrası sağ testisi dışarı alındı. Yapıların bir dakika gözlenmesinin ardından skrotum cildi 4/0 nylon sütür ile geçici olarak kapatıldı. 4 saat sonra skrotum tekrar açılarak intratestiküler 20 µl PRP uygulandı. Skrotum katları tekrar 4/0 nylon ile kapatılarak 28 gün sonra sağ orşiektomi uygulandı.

Grup 5 (İskemi + PRP): İskemi + PRP grubundaki sıçanların sağ testisleri saat yönünde 720° döndürülerek torsiyone edildikten sonra skrotal kese içerisine 4/0 nylon sütür ile tespit edildi. Skrotum cildi 4/0 nylon sütür ile geçici olarak kapatılarak 4 saat iskemi sonrası cilt tekrar açıldı ve intratestiküler 20 µl PRP uygulandı. Skrotum katları tekrar 4/0 nylon ile kapatılarak 28 gün sonra sağ orşiektomi uygulandı.

Grup 6 (İskemi/Reperfüzyon + PRP): İskemi/reperfüzyon + PRP grubundaki sıçanların da sağ testisleri 720° saat yönünde torsiyone edildikten sonra skrotal kese içerisine 4/0 nylon sütür ile tespit edildi. Skrotum cildi 4/0 nylon sütür ile geçici olarak kapatılarak 4 saatlik iskemi süresi boyunca ek anestezi dozlarıyla sıçanlar uyutuldu. 4 saatlik iskemi sonrası detorsiyon işlemi için tekrar cilt açıldı ve detorsiyon sonrası intratestiküler 20 µl PRP uygulandı. Yapılar anatomik pozisyonuna yerleştirilerek skrotum katları tekrar 4/0 nylon ile kapatıldı. 28 gün sonra sağ orşiektomi uygulandı.

PRP hazırlama grubu: Randomize olarak seçilen aynı cins ve yaştaki 2 adet erkek sıçan, uygulamanın yapılacağı gün anestezi altına alınarak intrakardiyak kan alınması sonucu eksanguinasyon yöntemiyle kurban edildi. Elde edilen 20 ml kanın 2 ml'si tam kan sayımı yapılması amacıyla etilen diamintetraasetik asit (EDTA)'lı tüpe alındı. Platelet konsantrasyonu beklenen değere yakın olarak 580.000 / µl olarak saptandı. Geriye kalan 18 ml kan ise PRP hazırlanması amacıyla ayrıldı.

Dişi rat grubu: En az üç ardışık 4 günlük östrus siklusuna sahip olduğu belirlenen 12 adet dişi rat oosit toplanması amacıyla cerrahi prosedür için hazırlandı. Cerrahi alan tıraş edilerek ve povidon-iyot solüsyonu ile dezenfekte edildi. Alt abdomene 3 cm'lik vertikal kesi yapılarak bilateral uterus boynuzları ve overler belirlendi.

3.4.2. Kontrollü overyan hiperstimülasyon ve oosit toplanması

Kontrollü overya hiperstimülasyon (KOH) oluşturmak için McGill Üniversitesi Jinekoloji ve Obstetrik Departmanı Reprodüktif Biyoloji Bölümü, Ri – Cheng Chian, PhD tarafından geliştirilmiş indüksiyon protokolü kullanıldı.

3.4.2.1. Östrus senkronizasyonu

Dişi ratların menstrüel sikluslarını eşleyerek aynı zamanda olgunlaşmış oosit elde edebilmek amacıyla östrus senkronizasyonu yapıldı. Bunun için ratlara intraperitoneal (i.p) olarak 3 gün arayla 2 doz 0,5 µg kloprostenol sodyum (PGS 250 µg/ml, ALKE SAĞLIK ÜRÜNLERİ SAN. VE TİC. A.Ş, İstanbul) uygulandı. Buna ek olarak ikinci kloprostenol dozu ile birlikte subkutan 3 µg progesteron (Perlutex 5 mg, Topkim) verildi (Pallarez ve Gonzales-Bulnes, 2009). Senkronizasyonun değerlendirilmesi vajinal tıkaç oluşumu gözlenerek yapıldı.

3.4.2.2. Kontrollü overyan stimülasyon

En az üç ardışık 4 günlük östrus siklusuna sahip olduğu belirlenen sıçanlar ovülasyon indüksiyonuna alındı. Östrus senkronizasyonu yapılan dişi sıçanlar her iki over için intraperitoneal (i.p) yolla uyarıldı. İlk enjeksiyonda saat 16.00- 18.00 arasında, 5.0 IU hamile kısarak serum gonadotropini (Chronogest / PMSG, Intervet, İstanbul, Türkiye) ve yaklaşık 48 saat sonra ise 5.0 IU insan koryonik gonadotropin (hCG; Gonatropin) , Chorulon ® Intervet, İstanbul, Türkiye) enjekte edildi. Olgunlaşan oositler hCG enjeksiyonundan 12- 14 saat sonra toplandı (Hino ve ark., 2020).

3.4.2.3. Oosit toplanması

Tüm sıçanlara intraperitoneal 50 mg / kg ketamin hidroklorik asit (Ketalar; Eczacıbaşı Warner- Lambert İlaç Sanayi, Levent, İstanbul, Türkiye) ve 7 mg / kg ksilazin hidroklorik asit (Rompun, Bayer Şişli, İstanbul, Türkiye) ile anestezi uygulandı (İlgen ve ark., 2020).

hCG enjeksiyonundan 16 – 18 saat sonra dişi sıçanlar sakrifiye edildi. Ovidukt ve ovaryumlar çıkartılarak toplama medyumu olan kültür dişine aktarıldı. Ampulla bölgesinden oosit- kümülüs kompleksi toplandı. Toplam 12 dişi rattan, gruplardaki erkek ratların her biri için 5 adet olmak üzere toplam 240 yumurta temin edildi.

3.5. İn-Vitro Fertilizasyon (İVF) Protokolü

KOH yapılmış dişi sıçanlar hCG enjeksiyonunu takip eden 13 – 15 saat sonra sakrifiye edilerek, ovidukt ve ovaryum disseksiyonları yapıldı. Aynı gün erkek sıçanlar da sakrifiye edilip, epididimis ve vas deferans disseksiyoları yapıldı.

3.5.1. Erkek ratlardan sperm toplanması

Torsiyon, torsion/detorsiyon cerrahilerinden 28 gün sonra tüm erkek ratlar dişi ratların sakrifiye edilmesinden 1 saat önce, anestezi altında eksanguinasyon + servikal dislokasyon ile sakrifiye edildi. Anestezi için 50 mg / kg% 10 ketamin hidroklorür (Ketalar; Eczacıbaşı Warner- Lambert İlaç Sanayi, Levent, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal (i.p.) yoldan, sedatif ve düz kas gevşetici olarak 7 mg / kg % 2 ksilazin hidroklorür (Rompun, Bayer Şişli, İstanbul, Türkiye) i.p. yoldan uygulandı (İlgen ve ark., 2020; Sekerci ve ark., 2017). Sırtüstü yatırılan ratların batını tıraş edilip, povidone-iodine solüsyonu ile silindi ve sonrasında steril koşullarda, median laparotomi ile açıldı. Alt abdominal bölgeleri insize edilerek sağ orşiektomi uygulandı. Testislerin toplam ağırlık ölçümleri alındı. Epididimis ve ductus deferens disseksiyonunun ardından forceps yardımıyla sperm örnekleri kapasitasyon medyumuna aktarıldı.

3.5.2. Sperm kapasitasyonu

Spermiler, sperm kapasitasyon medyumunda en az 45- 60 dakika, karbondioksit kontrollü inkübatörde (IncuSafe Multigas Incubators, Model MCO-5M-PE) bekletildi (Resim 3.5). Motil spermiler, kapasitasyon medyumunda sperm pelletinin kenarlarına doğru yüzerler. Çalışma grubumuzda bu spermilerin kullanmasına gayret edildi.



Resim 3.5. Korbondiyoksit kontrollü inkübatör (IncuSafe Multigas Incubators, Model MCO-5M-PE)

3.5.3. İnseminasyon

Sperm konsantrasyonu sayısı İVF için önemli gözükme de sayısı ml’de yaklaşık 1-25 x 10⁶ olmalıdır. Pipet ile 10 µl sperm, kapasitasyon drobunun kenarından alınarak yumurta olan droba aktarıldı.

3.5.4. Zigot yıkama ve embriyo kültürü

İnseminasyon işleminin üzerinden 16-18 saat geçtikten sonra, yumurtalar sperm fazlalıkları ve kümülüsten dikkatlice uzaklaştırıldı ve fertilizasyon medyumundan alınarak kültür dişlerine (Nunc, Cat. No.63754, Denmark) aktarılaraq üzerleri jelatinle kaplandı.

Zigotlar 2 hücreli embriyo safhasına inseminasyondan 24 saat sonra girmektedir. Çalışmamızda embriyolar 5 güne kadar kültürize edildi.

3.5.5. Fertilizasyon ve kapasitasyon medyumları

Sperm preinkübasyonu, fertilizasyon ve embriyo transferi için Human Tubal Fluid (HTF) medyum (Cat. No. 90166, Irvine Scientific, Santa Ana, CA, USA) kullanıldı.

Fertilizasyon Medyum: m-HTF buffer (Global ® Total ® LP) + 4 mg BSA/ml

Kapasitasyon Medyum: m-HTF buffer (Global ® Total ® LP) + 9 mg BSA/ml 200 ml.

Tablo 3.1. Fertilizasyon ve kapasitasyon için kullanılan solüsyonların içeriği

Solüsyondaki Maddeler	Miktar
CaCl ₂ •2H ₂ O	0,0600 g
MgSO ₄ •7H ₂ O	0,0099 g
NaCl	1,1875 g
Glukoz	0,1000 g
Penisilin	0,0750 g
Streptomisin	0,0100 g
Fenol Kırmızısı (% 1)	0,0400 ml

3.6. Histopatolojik İnceleme

3.6.1. Sperm parametreleri

Deney sonunda fosfat tamponlu salin solüsyonu (PBS) içine alınan epididimal sperm süspansiyonundan 10 µl alındı ve Makler sayım kamerasında sperm sayımı yapıldı. Sayımlar seyreltme oranı ile çarpılarak konsantrasyonları kaydedildi. Örnekler Makler sayım kamerasında 10 karede ileri hareketli, yerinde hareketli, hareketsiz parametreleri açısından değerlendirme yapıldı. Gruplar arasında hareketli sperm yüzdesi ve sperm konsantrasyonu açısından fark olup olmadığı karşılaştırıldı. Işık mikroskopunda 40X büyütmede incelenen altı gruptaki her sıçana ait örneklerin boyamalarında 200 adet spermde normal morfoloji ve anormal morfolojileri değerlendirilerek yüzdeleri hesaplandı.

3.6.2. Testislerin doku takibi

Testisler +4°C’de Bouin’s fiksatifinde 20 saat boyunca bekletildikten sonra vertikal düzlemde ikiye bölündü ve tespitleri 24 saate tamamlandı. Tespit işleminin ardından testisler yıkamaya alınmadan sırasıyla %70, %80, %90, %100 etil alkol serilerinde dehidratasyon yapılması amacıyla 24’er saat tutuldu. Dehidratasyonun ardından üçlü ksilen serisinin her birinde 15’er dakika tutulmak üzere şeffaflaştırma yapıldı. Şeffaflaştırma işleminden sonra 60°C etüvde üçlü parafin serisinin her birinde 1’er saat tutulmak üzere infiltrasyon işlemi yapıldı. Örneklerin erimiş parafine gömülmesinin ardından ise bloklama işlemi gerçekleştirildi.

3.6.3. Testislerden kesit alınması ve değerlendirilmesi

Örnekler kesit alma işlemine hazırlanmak üzere -20°C’de bekletildi. Thermo Scientific Microm HM40E (Otto-Hahn-Strasse1a 69190 Walldorf, Germany) marka mikrotom ile 3-5 µm kalınlığında alınan kesitler jelatinli (Gelatine, Foodland, Ewald-Gelatine GmbH, Meddersheimer Str. 50, 55566 Bad Sobernheim, Germany) sıcak su banyosunda açılmaları sağlanarak lamlara alındı. Kesitler, histolojik yapılarının incelemesi amacıyla Hematoksilen-Eosin (Merck KGaA 64271 Darmstadt, Germany) boyandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Hematoksilen- Eozin boyama protokolü

Kimyasal Madde	Uygulama Süresi
Deparafinizasyon	30 dakika(Etüvde)
Ksilol I	2 dakika
Ksilol II	2 dakika
%100 Alkol I	1 dakika
% 100 Alkol II	1 dakika
%96 Alkol I	1 dakika
%96 Alkol II	1 dakika
Çeşme suyunda yıkama	3 dakika
Hematoksilen	3 dakika
Çeşme suyunda yıkama	3 dakika
Asit alkol	2*2 saniye
Çeşme suyunda yıkama	3 dakika
%80 Alkol	1.5 dakika
Eosin	20 saniye
%96 Alkol I	2 dakika
%96 Alkol II	2 dakika
%100 Alkol	2 dakika
%100 Alkol	2 dakika
Ksilol I	2 dakika
Ksilol II	2 dakika
Lamların kapatılması	

Boyama işleminin ardından lameller ile kapatılan lamlar ışık mikroskobu altında incelendi. Histolojik değerlendirme Johnsen Testiküler Biyopsi Skorlaması sistemi kullanıldı (Tablo 3.3). Testiküler biyopsinin bir bölümündeki tüm seminifer tübül kesitleri sistematik olarak değerlendirildi ve her birine Tablo 3.3'te verilen kriterlere göre 1-10 arasında bir puan verildi. Ortalama skoru hesaplamak için, her bir skorda kaydedilen tübül sayısı, skor ile çarpıldı ve tüm 10 çarpımın toplamı, kaydedilen toplam tübül sayısına bölündü (Johnsen, 1970).

Tablo 3.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skorlaması (Sağnak Akıllı, 2018'den değiştirilerek kullanılmıştır.)

Skor 1	Tübüler yapılarda hiç hücre yok
Skor 2	Germ hücresi yok, yalnızca Sertoli hücreleri var
Skor 3	Germ hücrelerinden sadece spermatogonia hücreleri var
Skor 4	5'ten az sayıda spermatosit var, ancak spermatozoa veya spermatid yok
Skor 5	Spermatozoa veya spermatid yok fakat çok sayıda spermatosit var
Skor 6	Spermatozoa yok, <5-10 spermatid, çok sayıda spermatosit ve spermatogonia var
Skor 7	Spermatozoa yok ancak çok sayıda spermatid var
Skor 8	Sadece birkaç adet spermatozoa (<5-10) var.
Skor 9	Çok sayıda spermatozoa, organize olmayan germinal epitel, oblitere tübüler lümen
Skor 10	Çok sayıda spermatozoa ile birlikte komplet spermatogenez, organize germinal epitel,

3.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Simirnov testi ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Kruskal-wallis testi kullanıldı. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 28.0 (IBM, NY, ABD) programı kullanıldı ve $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Gros Bulgular

Sham ve sham+PRP gruplarında *testis ağırlığı* iskemi, İ/R, İ+PRP, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksekti. Sham ve sham+PRP grupları arasında *testis ağırlığı* anlamlı ($p>0.05$) farklılık göstermedi. İ/R ve İ/R+PRP gruplarında *testis ağırlığı* iskemi, İ+PRP gruplarından anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksekti. İ/R+PRP grubunda *testis ağırlığı* İ/R grubundan anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksekti. İ+PRP grubunda *testis ağırlığı* iskemi, grubundan anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksekti (Tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Grupların “Testis Ağırlığı” açısından karşılaştırma sonuçları

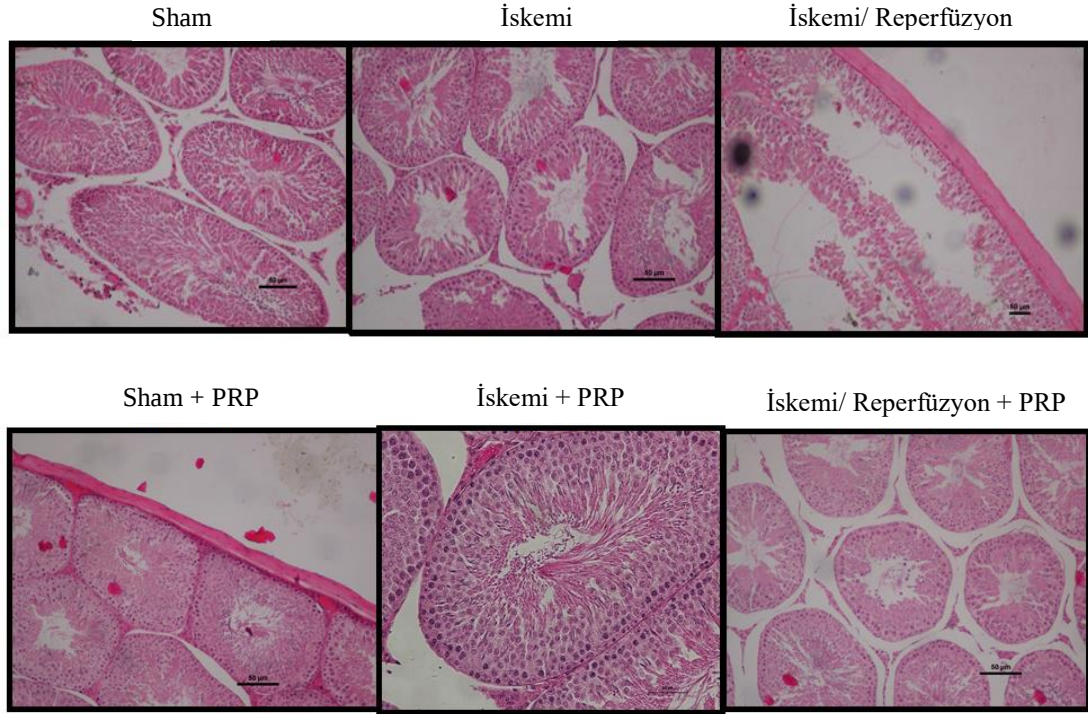
	Testis Ağırlığı (gr)			p
	Min- Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	- 3,26	3,11	3,09 ± 0,11 ⁶⁵³²	0,000 ^K
² İskemi	1,12 - 1,34	1,26	1,25 ± 0,08 ⁶⁵⁴³	
³ İ/R	2,46 - 2,71	2,58	2,58 ± 0,08 ⁶⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	3,01 - 3,34	3,15	3,17 ± 0,11 ⁶⁵	
⁵ İ+PRP	1,23 - 1,42	1,34	1,34 ± 0,07 ⁶	
⁶ İ/R+PRP	2,55 - 2,80	2,66	2,67 ± 0,08	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark $p<0,05$

³ İ/R grubu ile fark $p<0,05$ / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark $p<0,05$

⁵ İ+PRP grubu ile fark $p<0,05$ / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark $p<0,05$

4.2. Histopatolojik Bulgular



Resim 4.1. Seminifer tübüllerin histolojik yapısı (H.E., x200)

Sham grubunda seminifer tübüllerin normal yapısı görüldü. İskemi grubunda seminifer tübüllerde bazı alanlarda vakuolizasyon ve spermatogenetik tabakalarda parçalanma ve tübül yapısında atrofi izlendi. Bu durum neticesinde az sayıda spermatozoa görüldü. İskemi/reperfüzyon (İ/R) grubunda seminifer tübüllerde sperm üretiminin yok denecek kadar azaldığı, lümende çok az sperm bulunduğu görüldü. İskemi/reperfüzyon+ PRP grubunda seminifer tübüllerde atrofının ve tübüller arası alanın azalmış olduğu, genel olarak histolojik yapıda düzelme olduğu görüldü. İskemi + PRP grubunda ise sham grubuna benzer spermatogenetik tabakalar ve seminifer tübül lümeninde birikmiş spermatozoalar görüldü. Sham+ PRP grubunda seminifer tübüllerin sham grubuna benzer normal bir histolojik yapıya sahip oldukları görüldü. İ+PRP grubunda seminifer tübüllerde atrofının, tübüller arası vakuolizasyonun azalmış olduğu, İskemi grubuna göre genel olarak histolojik yapıda düzelmenin olduğu görüldü. İ/R+PRP grubunda sham grubuna benzer spermatogenetik tabakalar ve seminifer tübül lümeninde birikmiş spermatozoalar izlendi (Resim 4.1).

Sham ve sham+PRP gruplarında *johnsen skoru* iskemi, İ/R, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. Sham grubu ile sham+PRP ve İ+PRP grupları arasında *johnsen skoru* anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi. Sham+PRP ve İ+PRP grupları arasında *johnsen skoru* anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi. İ+PRP grubunda *johnsen skoru* iskemi, İ/R, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. İ/R+PRP grubunda *johnsen skoru* İ/R grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti ancak İskemi ve İ/R+PRP grubu arasında anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2. Grupların “Johnsen testiküler biyopsi skoru” açısından karşılaştırma sonuçları

	Johnsen Skoru			p
	Min- Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	8,0 - 10,0	9,0	8,8 ± 0,7 ⁶³²	0,000 ^K
² İskemi	7,0 - 8,0	7,0	7,3 ± 0,5 ⁵⁴³	
³ İ/R	5,0 - 7,0	6,0	5,9 ± 0,6 ⁶⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	8,0 - 10,0	8,5	8,6 ± 0,7 ⁶	
⁵ İ+PRP	7,0 - 9,0	8,0	8,1 ± 0,6 ⁶	
⁶ İ/R+PRP	6,0 - 8,0	7,0	7,0 ± 0,5	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark $p<0,05$

³ İ/R grubu ile fark $p<0,05$ / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark $p<0,05$

⁵ İ+PRP grubu ile fark $p<0,05$ / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark $p<0,05$

4.3. Semen Analizi Sonuçları

Sham ve sham+PRP gruplarında *sperm konsantrasyonu* iskemi, İ/R, İ+PRP, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. Sham ve sham+PRP grupları arasında *sperm konsantrasyonu* anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi. İskemi ve İ+PRP gruplarında *sperm konsantrasyonu* İ/R, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. İskemi grubunda *sperm konsantrasyonu* İ+PRP grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. İ/R+PRP grubunda *sperm konsantrasyonu* İ/R grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. (Tablo 4.3)(Şekil 4.1)

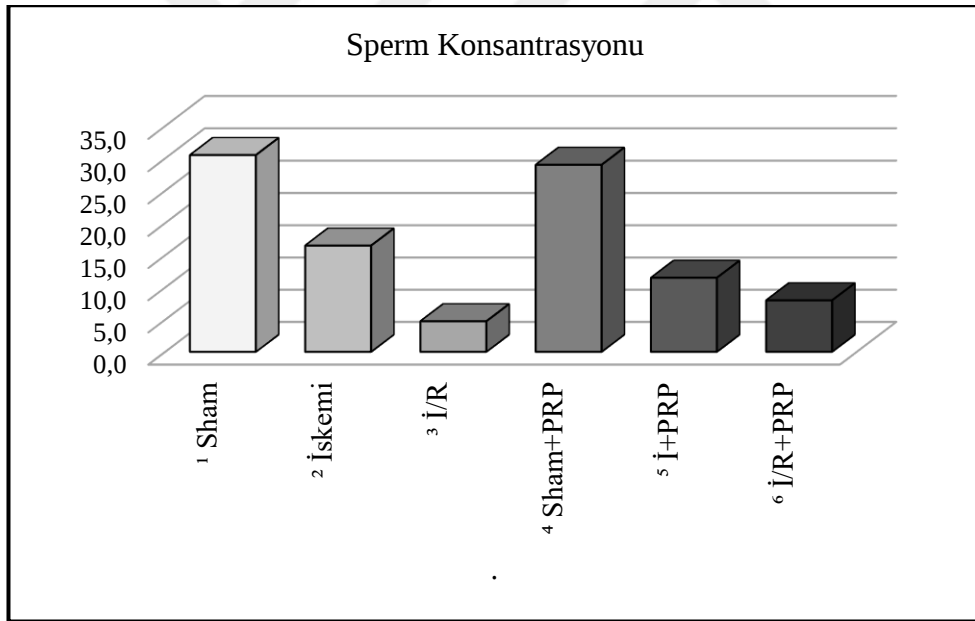
Tablo 4.3. Grupların “Sperm Konsantrasyonu” açısından karşılaştırması

	Sperm Konsantrasyonu			p
	Min- Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	26,0 - 35,0	29,5	30,5 ± 3,4 ⁶⁵³²	0,000 ^K
² İskemi	15,0 - 18,0	16,5	16,5 ± 1,2 ⁶⁵⁴³	
³ İ/R	3,0 - 6,0	5,0	4,8 ± 1,0 ⁶⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	23,0 - 33,0	30,0	29,0 ± 3,5 ⁶⁵	
⁵ İ+PRP	9,0 - 14,0	11,5	11,5 ± 1,6 ⁶	
⁶ İ/R+PRP	6,0 - 11,0	8,0	8,0 ± 1,5	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark p<0,05

³ İ/R grubu ile fark p<0,05 / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark p<0,05

⁵ İ+PRP grubu ile fark p<0,05 / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark p<0,05



Şekil 4.1. Grupların sperm konsantrasyonları

Sham ve sham+PRP gruplarında *hareketli sperm yüzdesi* iskemi, İ/R, İ+PRP, İ/R+PRP gruplarından anlamlı (p<0,05) olarak daha yüksekti. Sham ve sham+PRP grupları arasında *hareketli sperm yüzdesi* anlamlı (p>0,05) farklılık göstermedi. İ+PRP grubunda *hareketli sperm yüzdesi* iskemi, İ/R, İ/R+PRP gruplarından anlamlı (p<0,05) olarak daha yüksekti. İskemi ve İ/R+PRP gruplarında *hareketli sperm yüzdesi* İ/R

grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti ancak İskemi ve İ/R+PRP grupları arasında anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi (Tablo 4.4)(Şekil 4.2).

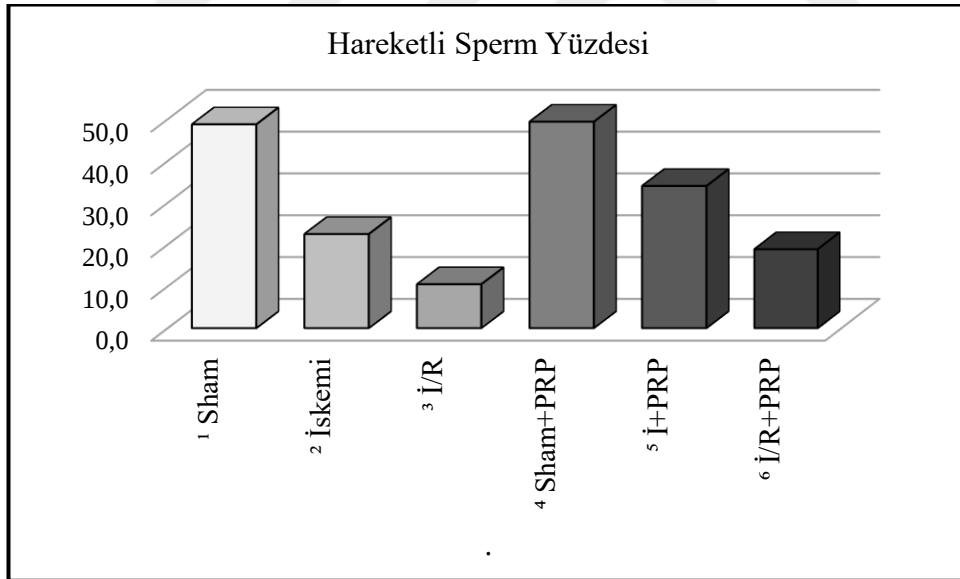
Tablo 4.4. Grupların semen parametrelerinin “Hareketli Sperm Yüzdesi” açısından karşılaştırılması

	Hareketli Sperm Yüzdesi			P
	Min- Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	40,0 - 60,0	47,5	48,8 ± 7,4 ⁶⁵³²	0,000 ^K
² İskemi	20,0 - 25,0	22,5	22,5 ± 2,7 ⁵⁴³	
³ İ/R	10,0 - 12,0	10,0	10,5 ± 0,9 ⁶⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	35,0 - 60,0	50,0	49,4 ± 7,8 ⁶⁵	
⁵ İ+PRP	28,0 - 42,0	33,5	34,0 ± 4,5 ⁶	
⁶ İ/R+PRP	15,0 - 24,0	19,0	18,9 ± 3,6	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark $p<0,05$

³ İ/R grubu ile fark $p<0,05$ / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark $p<0,05$

⁵ İ+PRP grubu ile fark $p<0,05$ / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark $p<0,05$



Şekil 4.2. Hareketli sperm yüzdelerinin şematik gösterimi

Sham ve sham+PRP gruplarında *morfoloji değeri* iskemi, İ/R, İ+PRP, i/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksek olmasına rağmen, Sham ve sham+PRP grupları arasında ise anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermemiştir. İskemi ve İ+PRP gruplarında *morfoloji değeri* İ/R, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$)

olarak daha yüksekti. İ+PRP grubunda *morfoloji değeri* iskemi grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. İ/R+PRP grubunda *morfoloji değeri* İ/R grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti (Tablo 4.5)(Şekil 4.3).

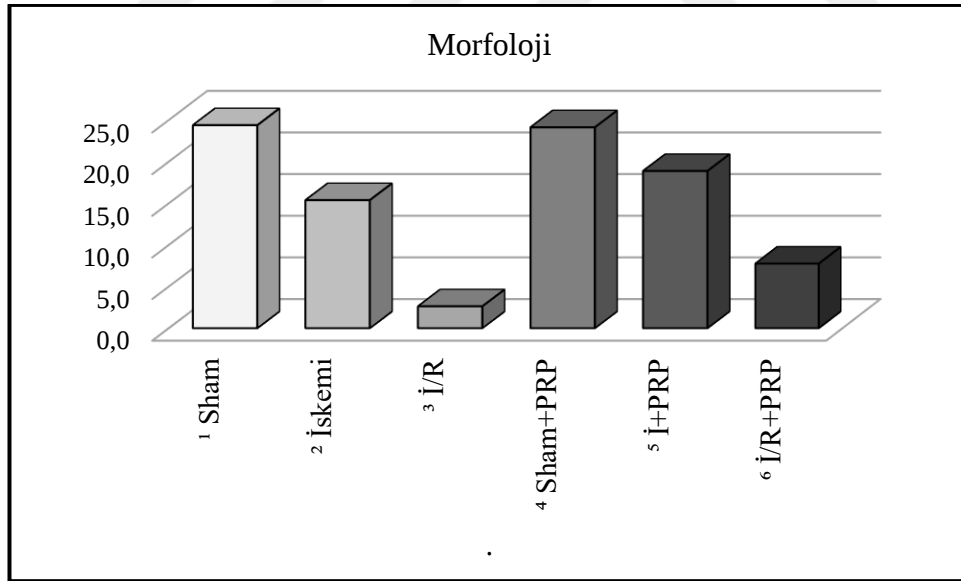
Tablo 4.5. Semen parametrelerinin “Morfoloji” açısından karşılaştırılması

	Morfoloji			p
	Min- Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	20,0 - 30,0	25,0	24,4 ± 3,2 ⁶⁵³²	0,000 ^K
² İskemi	13,0 - 17,0	15,5	15,4 ± 1,2 ⁶⁵⁴³	
³ İ/R	2,0 - 3,0	3,0	2,6 ± 0,5 ⁶⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	21,0 - 28,0	23,5	24,1 ± 2,6 ⁶⁵	
⁵ İ+PRP	16,0 - 21,0	19,0	18,9 ± 1,6 ⁶	
⁶ İ/R+PRP	7,0 - 9,0	8,0	7,8 ± 0,7	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark $p<0,05$

³ İ/R grubu ile fark $p<0,05$ / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark $p<0,05$

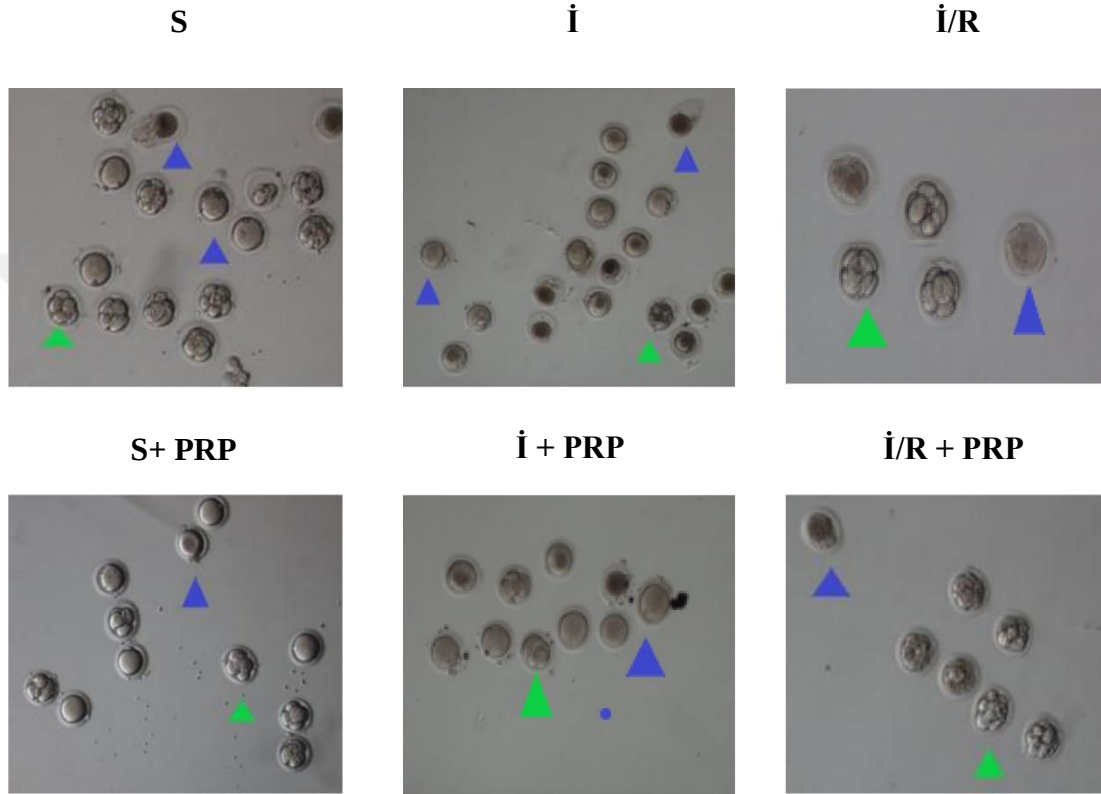
⁵ İ+PRP grubu ile fark $p<0,05$ / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark $p<0,05$



Şekil 4.3. Morfoloji sonuçlarının şematik gösterimi

4.4. İVF Sonuçları

S ve S+PRP gruplarında ikinci gün embriyo sayıları, diğer gruplara göre oldukça iyi durumdaydı. İ/R ve İ/R+PRP gruplarında ise ikinci gün embriyo sayıları oldukça düşüktü. PRP uygulaması sonrası sham grubu hariç tüm gruplarda ikinci gün embriyo sayısı ve kalitesinde olumlu gelişim görüldü (Resim 4.2).



Resim 4.2. Gruplara ait ikinci gün embriyo görüntüleri (x100, yeşil ok başı: İkinci gün bölünmüş embriyolar; mavi ok başı: Fertilize olmayan oositler)

Sham ve sham+PRP grubunda *fertilize oosit sayısı* iskemi, İ/R, İ+PRP, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. Sham ve sham+PRP grupları arasında *fertilize oosit sayısı* anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi. İ+PRP grubunda *fertilize oosit sayısı* İ/R, İ/R+PRP gruplarından anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. İskemi ve İ/R+PRP grubunda *fertilize oosit sayısı* İ/R grubundan anlamlı ($p<0,05$) olarak daha yüksekti. İskemi grubu ile İ+PRP ve İ/R+PRP grupları arasında *fertilize oosit sayısı* anlamlı ($p>0,05$) farklılık göstermedi (Tablo 4.6)(Resim 4.2).

Tablo 4.6. Grupların “Fertilize Oosit Sayısı” açısından karşılaştırılması

	Fertilize Oosit Sayısı			p
	Min- Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	3,00 - 4,00	3,50	3,50 ± 0,53 ⁶⁵³²	0,000 ^K
² İskemi	1,00 - 2,00	1,50	1,50 ± 0,53 ⁴³	
³ İ/R	0,00 - 1,00	1,00	0,63 ± 0,52 ⁶⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	3,00 - 4,00	3,00	3,38 ± 0,52 ⁶⁵	
⁵ İ+PRP	1,00 - 3,00	2,00	2,00 ± 0,53 ⁶	
⁶ İ/R+PRP	1,00 - 2,00	1,00	1,38 ± 0,52	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark p<0,05

³ İ/R grubu ile fark p<0,05 / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark p<0,05

⁵ İ+PRP grubu ile fark p<0,05 / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark p<0,05

Sham ve sham+PRP grubunda *bölünen oosit sayısı* iskemi, İ/R, İ+PRP, İ/R+PRP gruplarından anlamlı (p<0.05) olarak daha yüksekti. Sham ve sham+PRP grupları arasında *bölünen oosit sayısı* anlamlı (p>0.05) farklılık göstermedi. İ+PRP grubunda *bölünen oosit sayısı* İ/R grubundan anlamlı (p<0.05) olarak daha yüksekti. İskemi grubu ile İ/R, İ+PRP, İ/R+PRP grupları arasında anlamlı (p>0.05) farklılık saptanmadı. İ/R ve İ/R+PRP grupları arasında *bölünen oosit sayısı* anlamlı (p>0.05) farklılık göstermedi (Tablo 4.7)(Resim 4.2).

Tablo 4.7. Grupların “Bölünen Oosit Sayısı (2. gün embriyo sayıları)” açısından karşılaştırılması

	Bölünen Oosit Sayısı			p
	Min-Mak	Medyan	Ort.± SS	
¹ Sham	1,00 - 3,00	2,00	2,00 ± 0,76 ⁶⁵³²	0,000 ^K
² İskemi	0,00 - 2,00	1,00	0,75 ± 0,71 ⁶⁴	
³ İ/R	0,00 - 1,00	0,00	0,38 ± 0,52 ⁵⁴	
⁴ Sham+PRP	1,00 - 2,00	2,00	1,75 ± 0,46 ⁶⁵	
⁵ İ+PRP	1,00 - 2,00	1,00	1,13 ± 0,35	
⁶ İ/R+PRP	0,00 - 2,00	1,00	0,88 ± 0,64	

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ² İskemi grubu ile fark p<0,05

³ İ/R grubu ile fark p<0,05 / ⁴ Sham+PRP grubu ile fark p<0,05

⁵ İ+PRP grubu ile fark p<0,05 / ⁶ İ/R+PRP grubu ile fark p<0,05

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Testis torsiyonu, ani gelişen, tanı alındığında acil müdahale edilmesi gereken ürolojinin gerçek acillerindendir. Manuel ya da cerrahi detorsiyon uygulanmasına rağmen, işleme kadar geçen sürede meydana gelen iskemik hasar ve işlem sonrası reperfüzyon hasarının etkisiyle testiste kalıcı hasar meydana gelebilmektedir. Bu gelişen hasarı azaltmaya yönelik cerrahi sonrası uygulanabilecek medikal tedavi arayışı günümüzde halen devam etmektedir. Birçok tedavi şekli araştırılmış olsa da genel kabul görmüş, klavuzlara girmiş bir tedavi bulunamamıştır. Son yıllarda intratestiküler PRP uygulaması ile yapılan çalışmalarla, PRP'nin testis dokusunda TT sonrası gelişen iskemi/reperfüzyon hasarı üzerinde gerek biyokimyasal gerekse histopatolojik olumlu etkileri gösterilmiştir. Ancak bu etkinin klinik fertilite sonuçlarını ne derecede etkilediği bilinmemektedir. Biz de bu çalışmayla, TT sonrası PRP tedavisinin klinik fertilite üzerindeki etkinliğini araştırmayı planladık.

Testis torsiyonu modeli için literatürde farklı yaklaşımlar tanımlanmıştır. Araştırılması planlanan konuya göre değişiklik göstermesi, tek ve kesin bir metod olmaması sebebiyle literatürde tanımlanan yöntemlerden çalışmamıza uygun olanları seçtik. Deneysel araştırmalarda torsiyon derecesi 360° (Akçora ve ark., 2008; Turner, 1985), 720° (Gazia, 2020; Sağnak Akıllı, 2018; Sumii ve ark., 2016; Şekerci ve ark., 2017; Wei ve Huang, 2022) ve 1080° (Lorenzini ve ark., 2012) olmak üzere çeşitli modeller bulunsa da, çalışmamızda genellikle kullanılan sağ testis için saat yönünde 720°'lik torsiyon derecesi kullanıldı. Literatürde testise ulaşmak için kullanılan skrotal kesi yöntemi orta hat vertikal (Aydiner ve ark., 2012), subinguinal skrotal (Şekerci ve ark., 2017) veya hemiskrotal vertikal insizyon (Kostakis ve ark., 2017) tariflenmişken çalışmamızda kontralateral orşiektomi planlanmadığından ve sağ testis için yeterli görüş alanı sunması nedeniyle sağ hemiskrotal vertikal insizyon kullanılmıştır. Testis, torsiyon uygulandıktan sonra bazı çalışmalarda çift yerden (Koku ve ark., 2002), bazılarında ise tek yerden (Şekerci ve ark., 2017) tespit edilmiştir. Çalışmamızda torsiyon sonrası ratlar bir ay kadar uzun bir süre takip edildiğinden, testislerin takip süresince torsiyone/detorsiyone olmaması gözetilerek çift yerden tespit yöntemi kullanılmıştır. Literatürde 1,5 saat (Koku ve ark., 2002; Sukhotnik ve ark., 2007), 2 saat (Dogan, 2014; Gazia, 2020; Tu ve ark., 2013), 2,5 saat (Samy ve artk., 2020), 3

saat (Cosentino ve ark., 1985; Sağnak Akıllı, 2018; Vakili-Sadeghi ve ark., 2023), 4 saat (Aydiner ve ark., 2012; Şekerci ve ark., 2017; Taati ve ark., 2015), 5 saat (Cosentino ve ark., 1984; Lee ve ark., 2018), 9 saat (Cosentino ve ark., 1984) gibi çeşitli torsiyon süreleri uygulanmıştır. 720°'lik torsiyon süresi 4 saati aştığında fokal enfarktüslerin gelişebileceğinin gösterilmesi, geri dönüşümsüz hasar için eşik değer kabul edilmesi nedeniyle çalışmamızda 4 saatlik torsiyon süresi uygulanmıştır (Cosentino ve ark., 1985). Teorimize uygun olarak tüm gruplarda testislerden sperm elde edilerek İVF gerçekleştirildi.

Literatürde erkek ratların 70-80 günlük iken fertilizasyon yeteneği kazandığı bildirilmektedir (Short ve Woodnott, 1969). Sexüel fizyolojik çalışmalar için ise tam matüresasyonun gerçekleştiği kabul edildiği 100 gün ve üzeri yaştaki erkek ratların kullanımını öneren çalışmalar mevcuttur (Robb ve ark., 1978). Literatüre uygun olarak çalışmamızda 12 haftalık (yaklaşık 80-84 gün) ratların deneye alınması, geçirdikleri takip süreleri de göz önüne alındığında (4 hafta) 16 haftalık (yaklaşık 108-112 günlük) olduklarında İVF işlemine alınmaları sağlanmıştır.

Testis torsiyonunda, PRP tedavisi için skrotal (Valeriy ve ark., 2014) ve intratestiküler (Samy ve ark., 2020; Şekerci ve ark., 2017) enjeksiyon olmak üzere çeşitli uygulamalar olsa da birbirlerine üstünlükleri gösterilmemiştir. Kesin doz aralığını gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Gazia, TT'de PRP'nin histolojik etkilerini araştırdığı bir çalışmada intratestiküler enjeksiyon için 10 µl hacminde PRP kullanmış ve apoptozisin baskılandığını, sitoprotektif etkilerinin olduğunu bulmuştur (Gazia, 2020). Şekerci ve ark, yine intratestiküler 10 µl hacminde PRP kullanmış ve TT'de PRP tedavisinin iskemi/reperfüzyon hasarına karşı olumlu etkileri olduğunu bulmuşlardır. Russel ve ark, çeşitli tedavi yöntemlerinde 50 µl'nin üzerindeki hacimlerde intratestiküler enjeksiyonun kullanılabileceğini raporlamış, fakat sıvıların geri akış mekanizmasını uyarabileceği düşünülerek optimal hacmin ≤ 50 µl olması gerektiği sonucuna varmışlardır (Russel ve ark., 1987). Valeriy ve ark. ise, testis toksisitesi üzerinde PRP'nin etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, 2 haftalık aralarla intraskrotal 3 kez 100 µl hacminde PRP enjeksiyonu uygulamışlar ve olumlu netice almışlardır (Valeriy ve ark., 2014). Sağnak Akıllı'nın TT'ye bağlı hasarda kısa ve uzun dönemde PRP'nin etkinliğini araştırdığı bir çalışmada intratestiküler 100 µl PRP

uygulamasının etkin olmadığı, bunun sebebinin yüksek dozdaki enjeksiyona bağlı kapsül içinde basınç artışının doku hasarını artırabileceği bildirilmiştir. Biz de çalışmamızda intratestiküler basıncı artırmamak ve sıvı geri akışına yol açmamak amacıyla 50 µl'den az, literatürde etkinliği tanımlanan minimum doz olan 10 µl'den fazla olmak üzere, güvenli aralıkta olduğunu düşündüğümüz 20 µl hacmini tercih ettik.

PRP hazırlanması amacıyla literatürde farklı yöntemler tarif edilmiş olsa da henüz ortak bir yöntem uygulanmamaktadır. Farklı santrifüj süreleri ve hızlarında, ticari kit (Şekerci ve ark., 2017), tek santrifüj (Sağnak Akıllı, 2018), çift santrifüj (Samy ve ark., 2020) uygulanmış çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca, homolog (Şekerci ve ark., 2017) ve otolog (Oztan ve ark., 2018) kandan hazırlanan PRP uygulamaları da mevcuttur. Şekerci ve ark, çalışmamızdaki gibi intrakardiyak yoldan alınan kan ile çift çevirmeli yöntemle hazırlanan homolog PRP kullanmış ve sonuçlarını olumlu bulmuşlardır. Hazırlanan PRP ve tam kandaki platelet konsantrasyonunu 2000×10^3 platelet/µl olarak raporlamışlardır. Bizim çalışmamızda ise farklı olarak PRP hazırlığında ticari kit kullanılmış ve platelet konsantrasyonu 1950×10^3 platelet/µl olarak bulunmuştur.

Literatürde, ilaç etkinliğinin değerlendirildiği deneysel TT modellerinin bir kısmında, sham gruplarına, tedavi gruplarına uygulanan eşit hacimde ilaç veya serum fizyolojik verildiği görülmektedir. Valeriy ve ark, kontrol gruplarındaki farelere, PRP grubunda bulunan farelere verikleri dozda serum fizyolojik enjekte etmişlerdir (Valeriy ve ark., 2014). Bazı çalışmalarda ise kontrol (sham) gruplarına sadece cerrahi uygulanmış, herhangi bir medikasyon yapılmamıştır (Sağnak Akıllı, 2018; Şekerci ve ark., 2017). Çalışmamızda, sadece cerrahi yapılan sham grubu ve sham + PRP uygulaması yapılan grup olmak üzere iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Çıkan sonuçlarda, sham grubu ile sham + PRP grubu arasında hiçbir parametrede anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Bu sonuç intratestiküler 20 µl'lik PRP uygulamasının güvenli olduğunu düşündürmüştür. Ancak fertilize oosit sayısı ve bölünen oosit sayısı açısından aralarında fark olmaması nedeniyle, sağlıklı erkeklerde İVF başarısını artırmaya yönelik kullanılmasının uygun olmadığını düşünmekteyiz.

İVF protokolü ve dişi ratların hazırlığı için, Budak ve arkadaşlarının siklofosfamidin neden olduğu yumurtalık yetmezliği olan sıçanların İVF'si için PRP'nin koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada uyguladıkları teknik kullanıldı (Budak ve ark., 2022).

Ancak farklı olarak, erkek ratlardan sperm elde edilmesi aynı gün olacağından taze örnekleri kullanabilmek için, yumurtaların eş zamanlı ve istenilen sürede hazır olması amacıyla östrus senkronizasyonu uygulandı (Pallares ve Gonzales-Bulnes, 2009).

Testis torsiyonunda, torsiyonun süresi ve derecesine bağlı olarak seminifer tübüller arasında venöz yapılarda tıkanıklık, ödem ve kanama ve ardından germinal hücrelerde nekroz meydana gelir (Ozturk ve ark., 2014). Bizim çalışmamız da benzer şekilde I/R hasarı nedeniyle tübüller arasında vakuolizasyonda artış, seminifer tübüllerde atrofi gözlenmiştir. Sağnak Akıllı'nın, TT'de PRP'nin kısa ve uzun dönem etkinliğini değerlendirdiği çalışmada gruplar arasında tübül başına düşen sertoli hücre sayısı ve tübül çapı parametreleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır (Sağnak Akıllı, 2018). Çalışmamızda histopatolojik inceleme Johnsen skorlama sistemi kullanılmış olup Sağnak Akıllı'nın çalışmasında olduğu gibi ayrıntılı histopatolojik inceleme yapılmamıştır.

Verilerimiz Johnsen skorlama sistemine göre değerlendirildiğinde, Sham (medyan skor 9), Sham + PRP (medyan skor 8.5) ve İ + PRP (medyan skor 8) grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu 3 grubun skorları ise istatistiksel açıdan İ (medyan skor 7), İ/R + PRP (medyan skor 8.5) ve İ/R (medyan skor 6) gruplarından anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0,05$). İskemi grubunda İ/R + PRP grubundan yüksek skor olsa da aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Sağnak Akıllı'nın çalışmasında, 5 saatlik torsiyon süresinde Johnsen skorunun medyan skorunun 1,5 olması, genel kabul gören geridönüşümsüz hasar başlangıcının 4 saatte başladığı görüşüyle uyumludur. Aynı çalışmada, 3 saatlik iskemi/reperfüzyon hasarında PRP uygulanan grup ile uygulanmayan grup arasında istatistiksel fark saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda ise İ/R + PRP grubu, İ/R grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0,05$). Bu farklı sonucun yüksek hacimde intratestiküler enjeksiyona bağlı basınç hasarına bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Johnsen skorlama sistemini kullanıldığı, İloprost ve metotreksatın testis torsiyonu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, İ/R + metotreksat ve İ/R + iloprost gruplarıyla İ/R grubu arasında anlamlı fark raporlanmamıştır. Fakat histopatolojik hiçbir fark bulunmamasına karşın, tüm biyokimyasal parametrelerde farkın anlamlı olduğunu bulmuşlardır. Bu sonuç, biyokimyasal parametrelerin, histolojik

parametrelere göre daha hasas mı olduğu, ayrıntılı histopatolojik inceleme yapılsaydı aynı sonuçlara ulaşılır mıydı sorularını akla getirmektedir.

Şekerci ve ark, I/R grubu ile I/R + PRP grubunu biyokimyasal parametrelerle karşılaştırdıklarında, PRP grubunda TGF- β , MDA, MPO ve kaspaz-3 aktivitesi, lüteinize edici hormon (LH) ve folikül stimüle edici hormon (FSH) düzeylerini düşük, testosteron ve GSH düzeyiyle birlikte SOD aktivitesinin ise yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise MDO ve kaspaz-3 aktivitesini, TGF- β , MDA ve FSH düzeylerini ise yüksek bulmuşlardır. Ayrıca SOD aktivitesi, LH ve testosteron seviyelerinin kontrol grubuna benzer olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçların, PRP'nin apoptozisi sınırladığını ve leydig hücre fonksiyonunu muhafaza ettiğini bildirmişlerdir (Şekerci ve ark., 2017).

Sperm parametreleri incelendiğinde sperm konsantrasyonu ve morfoloji Sham grubuna kıyasla Sham + PRP grubunda daha düşük bulunmuş, hareketli sperm yüzdesi (ileri hareketli ve yerinde hareketli toplamı) ise daha yüksek bulunmuştur. Ancak aradaki farklar anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$). İ/R + PRP grubunda ise, tüm parametreler İR grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). İ + PRP grubunda ise ilginç bir şekilde sperm konsantrasyonu hariç, diğer sperm parametrelerinin İskemi grubundan yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Bu sonuçların, germ hücrelerinin destek hücrelerine göre reperfüzyon hasarına daha duyarlı olmasıyla uyumlu olduğunu düşünüyoruz. İskemi gruplarındaki yüksek değerlere ise gruplar içerisinde bazı ratların tespit sütürlerinin açılmış olmasının neden olduğunu düşünüyoruz.

İVF sonuçları, Budak ve arkadaşlarının siklofosfamid etkisiyle yumurtalık yetmezliği olan sıçanlarda PRP'nin koruyucu etkilerini araştırdığı çalışmaya benzer şekilde değerlendirilmiştir (Budak ve ark.i 2022). Fertilize oosit sayıları Sham grubunda (medyan 3.5) Sham + PRP grubundan (medyan 3) yüksek bulunmuş, ancak aralarındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). İ/R + PRP grubunda (medyan 1) ise İ/R (medyan 1) grubuna göre fertilize oosit sayılarının anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$). İ + PRP grubunda (medyan 2) ise İskemi grubundan (medyan 1,5) anlamlı olarak yüksek saptanmıştır ($p<0,05$).

Sham grubunda (medyan 2) bölünmüş oosit sayıları, Sham + PRP grubundan (medyan 2) yüksek bulunmasına rağmen, aralarındaki fark anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$). İ/R + PRP grubunda (medyan 1) bölünmüş oosit sayıları İ/R grubundan (medyan 0) yüksek olmasına rağmen aradaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). İ + PRP grubunda (medyan 1) ise bölünmüş oosit sayıları İskemi grubundan (medyan 1) yüksek bulunmasına rağmen aradaki fark anlamlı saptanmamıştır ($p>0,05$).

Khadiji ve arkadaşları, insan spermatogonial kök hücreleri (SSC) kullanarak 2D ve 3D kültür sistemleriyle PRP'nin etkisini araştırdığı bir çalışmada, PRP'nin uygun dozda SSC'lerin in vitro çoğalmasını teşvik ettiğini, kalsiyum klorid (CaCl_2) ile yapılan PRP aktivasyonunun ve üç boyutlu bir PRP iskelesinin oluşumunun kök hücre yayılımını önemli derecede artırdığını bulmuşlardır (Khadiji ve ark., 2020). PRP aktivasyonu için kalsiyum klorid veya trombin kullanımı öneren çalışmalar olsa da doku hasarı olan bölgeye olan uygulamalarda bunun gerekli olmadığını savunan görüşler de mevcuttur. Çalışmamızda İVF parametreleri açısından sham grupları arasında anlamlı fark saptanmamasını, doku hasarı olmayan sham gruplarına PRP aktivasyonu için bir madde kullanmamış olmamızın neden olabileceğini düşünüyoruz.

Elde ettiğimiz veriler ışığında, 20 μl 'lik dozda PRP uygulamasının testis hasarı meydana getirmeden reperfüzyon hasarına karşı olumlu etki ettiği görülmüştür. Sperm parametrelerine ve histopatolojik olarak reperfüzyon hasarına karşı olumlu etki göstermesine rağmen klinik fertilité sonuçlarına etkisinin sınırlı kaldığı göstermiştir.

6. KAYNAKLAR

- Ağras, K. (2012). İnmemiş Testiste Embriyoloji Ve Testiküler İniş Mekanizmaları. Turk Urol Sem., 3,17-22.
- Akçora, B., Altuğ, M. E., Balcı, A., Hakverdi, S., Yönden, Z., Akbaş, A., ... & Özyurt, H. (2008). Gradual detorsion of torsioned rat testis attenuates ischemia reperfusion injury. Journal of Pediatric Surgery, 43(10), 1879-1884.
- Anderson, J. B., & Williamson, R. C. N. (1988). Testicular torsion in Bristol: a 25-year review. Journal of British Surgery, 75(10), 988-992.
- Anderson, M.J., Dunn, J.K., Lipshultz, L.I., & Coburn, M. (1992). Semen Quality and Endocrine Parameters After Acute Testicular Torsion. The Journal of Urology, 147(6),1545-1550.
- Andrae, J., Gallini, R., Betsholtz, C. (2008). Role of Platelet-Derived growth factors in physiology and medicine. Genes & Development, 22, 1276–1312.
- Arıncı, K. & Elhan, A. (2016). Anatomi (Cilt 1). Güneş Kitabevi, Ankara, 330-332.
- Aydiner, C.Y., Pul, M., Inan, M., Bilgi, S., Çakır, E. (2012) Deneysel testiküler torsiyon modelinde N-asetilsistein doku hasarını önlemede rol oynayabilir mi? Cumhuriyet Medical Journal, 34, 462-471.
- Aydogdu, I., Karaca, E., Coban, G., Cay, A., Guler, E.M., Kocyigit, A., Uzun, E., Aydoğdu, Y.E., Metin, H., Miçoogullari, U., Ilbey, Y.O., Keskin, M.Z. (2012). An investigation of the effects of amniotic fluid on experimental ischemia/reperfusion damage in rat testes. Journal of Pediatric Urology,17(6), 761.e1-761.e6.
- Backhouse, K. (1982). Embryology of testicular descent and maldescent. Urologic Clinics of North America, 9, 315-325.
- Baglaj, M., Carachi, R. (2007). Neonatal bilateral testicular torsion: A plea for emergency exploration. Jorunal of Urology, 177(6), 2296-2299.
- Bakacak, M., Bostanci, M.S., Inanc, F., Yaylali, A., Serin, S., Attar, R., Et Al. (2016). Protective effect of platelet rich plasma on experimental ischemia/reperfusion injury in rat ovary. Gynecologic and Obstetric Investigation, 81, 225-31.
- Baker, L.A., Sigman, D., Mathews, R.I., Benson, J., Docimo, S.G. (2000). An analysis of clinical outcomes using color doppler testicular ultrasound for testicular torsion. Pediatrics, 105(3), 604-607.
- Balci, S., Ardali Duzgun, S., Arslan, S., Balci, H., Karcaaltincaba, M., Karaosmanoglu, A. D. (2021). Anatomy of testicular artery: A proposal for a

classification with MDCT angiography. *European Journal of Radiology*, 142, 109885. doi:10.1016/j.ejrad.2021.109885

Barbosa, J. A., Tiseo, B. C., Barayan, G. A., Rosman, B. M., Torricelli, F. C., Passerotti, C. C., Srougi, M., Retik, A. B., Nguyen H. T. (2013) Development and initial validation of a scoring system to diagnose testicular torsion in children. *Journal of Urology*, 189(5), 1859-64

Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*, 16(5), 585-601.

Başaklar, A.C. (2006). Akut skrotum. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları*, Cilt II. Palme Yayıncılık, Ankara, S:1753-1764.

Beck, R. O., Nicholl, P., Hickey, N. C., Black, J. (1992). Laparoscopic excision of an intra-abdominal testis. *Brazilian Journal of Urology*, 70(1), 105-106.

Bourne, H. H., and Lee, R. E. (1975). Torsion of spermatic cord and testicular appendages. *Urology*, 5(1), 73-75.

Budak, Ö., Bostancı, M. S., Toprak, V., Doğanay, S., Köse, O. (2022). Protective effects of platelet-rich plasma for In Vitro Fertilization of rats with ovarian failure induced by cyclophosphamide. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 44(2), 161-168.

Buege, J. A., Aust, A. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, Vol. 52, S:302-310

Buraundi, S., Balic, A., Farmer, P. J., Southwell, B. R., Hutson, J. M. (2011). Gubernacular development in the mouse is similar to the rat and suggests that the processus vaginalis is derived from the urogenital ridge and is different from the parietal peritoneum. *Journal of Pediatric Surgery*, 46(9), 1804-1812.

Bustos-Obregón, E., Holstein, A.F. (1976). The rete testis in man: Ultrastructural Aspects. *Cell Tissue Res*, 175(1), 1-15.

Carter, C. A., Jolly, D. G., Worden, S. R., Hendren, D. G., Kane, C. J. M. (2003). Platelet-Rich Plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Experimental and Molecular Pathology*, 74, 244-255.

Cherubini, A., Ruggiero, C., Morand, C., Lattanzio, F., Dell'Aquila, G., Zuliani, G., Lorio, A. D. & Andres-Lacueva, C. (2008). Dietary antioxidants as potential pharmacological agents for ischemic stroke. *Current Medicinal Chemistry*, 15(12), 1236-1248.

Ciftci, A. O., Şenocak, M. E., Tanyel, F. C., & Büyükpamukçu, N. (2004). Clinical predictors for differential diagnosis of acute scrotum. *European Journal of Pediatric Surgery*, 14(05), 333-338.

Cosentino, M. J., Rabinowitz, R., Valvo, J. R., Cockett, A. T. (1984). The effect of prepubertal spermatic cord torsion on subsequent fertility in rats. *Journal of Andrology*, 5(2), 93-98.

Cosentino, M. J., Nishida, M., Rabinowitz, R., Cockett, A. T. (1985). Histological changes occurring in the contralateral testes of prepubertal rats subjected to various durations of unilateral spermatic cord torsion. *Journal of Urology*, 133(5), 906-911.

Cummings, J. M., Boullier, J. A., Sekhon, D., & Bose, K. (2002). Adult testicular torsion. *The Journal of Urology*, 167(5), 2109-2110.

Çaman, Ş., Cici, İ., Pelin, A., Celayir, A. C. (2014). Akut skrotum; çocuk ürolojisinin önemli bir acil durumu [An Important Emergency Pathology in the Pediatric Urology: Acute Scrotum]. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*, 45(1), 49-53.

Dalili, A. R., Hamidi Madani, A., Sadeghi Joni, S. (2021). The Comparison of Resistance Index of Testicular Artery Using Color Doppler Ultrasound in Infertile Men Undergoing Varicocelectomy. *J Reprod Infertil*, 22(2), 110-115.

Das, S., Singer, A. (1990). Controversies of perinatal torsion of spermatic cord: A review, survey and recommendations. *Journal of Urology*, 143, 231.

Deasy, B. M., Qu-Peterson, Z., Greenberger, J. S., Huard, J. (2002). Mechanisms of muscle stem cell expansion with cytokines. *Stem Cells*, 20, 50-60.

Devasagayam, T.P.A., Bloor, K.K., Ramsarma, T. (2003). Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian J. Biochem. Biophys*, 40(5), 300-308.

Dias Filho, A. C., Rodrigues, R. O., Riccetto, C. L., & Oliveira, P. G. (2017). Improving organ salvage in testicular torsion: Comparative study of patients undergoing vs not undergoing preoperative manual detorsion. *The Journal of Urology*, 197(3), 811-817.

Djahangirian, O., Ouimet, A., Saint-Vil, D. (2010). Timing and surgical management of neonatal testicular torsions. *J Pediatr Surg*, 45(5), 1012-1015.

Docimo, S.G., Canning, D.A., Khoury, A.E. (2013). Testisin Temel Bilimi. Kelalis-King-Belman Pediatrik Üroloji Çeviren: Kilciler M. Habitat Yayıncılık, İstanbul, S:1053-1062.

Doğan, Ç. (2014). Ratlarda Testiküler Torsiyon/Detorsiyon Modeline Bağlı Oluşan Doku Hasarında Amlodipinin Etkisi. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, (Danışman: Prof. Dr. Z Halıcı).

Dündar, Y., Aslan, R. (1999). Hücre moleküler statüsünün araştırılması ve fizyolojik önem açısından radikaller-antioksidanlar. *Cerrahi Tıp Bilimleri Dergisi; İnsizyon*, 2(2), 134-142.

Eşrefoğlu, M. (2009). Özel Histoloji. Medipres Yayıncılık, Malatya, s: 253-264.

Favorito, L. A., Cavalcante, A. G., and Costa, W. S. (2004). Anatomic aspects of epididymis and tunica vaginalis in patients with testicular torsion. *International Brazilian Journal of Urology*, 30(5), 420-424.

Ferrara, N. (2004). Vascular Endothelial Growth Factor: Basic Science and Clinical Progress. *Endocrine Reviews*, 25(4), 581-611.

Figueroa, V., Salle, J. L. P., Braga, L. H., Romao, R., Koyle, M. A., Bağli, D. J., & Lorenzo, A. J. (2012). Comparative analysis of detorsion alone versus detorsion and tunica albuginea decompression (fasciotomy) with tunica vaginalis flap coverage in the surgical management of prolonged testicular ischemia. *The Journal of Urology*, 188(4), 1417-1423.

Fonkalsrud, E.W. (1987). Testicular Undescent And Torsion. *Pediatric Clinics of North America*, 34(5), 1305-1317.

Fowler, R., Stephens, F. D. (1959). The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 29, 92-106.

Freyenhofer, M. K., Gruber, S. C., Grove, E. L., Weiss, T. W., Wojta, J., Huber, K. (2015). Antiplatelet drugs in patients with enhanced platelet turnover: biomarkers versus platelet function testing. *Thrombosis and Haemostasis*, 114(3):459–68.

Gazia, M.A. (2020). Histological study on the possible ameliorating effect of platelet rich plasma on ischemia/reperfusion injury in testicular torsion model in adult albino rat. *Egyptian Journal of Histology*, 43(2), 614-629.

Germani, A., Di Carlo, A., Mangoni, A., Straino, S., Giacinti, C., Turrini, P., Biglioli, P., Capogrossi, M. C. (2003). Vascular endothelial growth factor modulates skeletal myoblast function. *The American Journal of Pathology*, 163, 1417-28.

Ghasemi, A., Jeddi, S., Kashfi, K. (2021). The laboratory rat: Age and body weight matter. *EXCLI Journal*, 20, 1431-1445.

Ghoshal, K., Bhattacharyya, M. (2014). Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *The Scientific World journal*, 2014, 781857.

Golding, J. P., Calderbank, E., Partridge, T. A., Beauchamp, J. R. (2007). Skeletal muscle stem cells express anti-apoptotic ErbB receptors during activation from quiescence. *Experimental Cell Research*, 313, 341-56.

Gökçe, A., Oktar, S., Koc, A., Gonenci, R., Yalcinkaya, F., Yonden, Z., Duru, M. (2010). Protective effect of thymoquinone in experimental testicular torsion. *Urologia Internationalis*, 85(4), 461-465.

Grageda, E. (2004). Platelet-Rich Plasma And Bone Graft Materials: A review and a standardized research protocol. *İmplant Dentistry*, 13(4), 301-309.

Hargrave, B., Varghese, F., Barabutis, N., Catravas, J., Zemlin, C. (2016). Nanosecond Pulsed Platelet-Rich Plasma (Nsprp) improves mechanical and electrical cardiac function following myocardial reperfusion injury. *Physiological Reports*, 4(4), e12710.

Harrison, R. G., Barclay, A. E. (1948). The distribution of the testicular artery (internal spermatic artery) to the human testis. *Brazilian Journal of Urology*, 20(2), 57-66.

Heldin, C. H., Westermark, B. (1999). Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiological Reviews*, 79, 1283–1316.

Heys, A., and Dormandy, T. (1981). Lipid peroxidation in iron-overloaded spleens. *Clinical Science*, 60(3), 295-301.

Hino, C., Ueda, J., Funakoshi, H., Matsumoto, S. (2020). Defined oocyte collection time is critical for reproducible in vitro fertilization in rats of different strains. *Theriogenology*, 144, 146-151.

Hutson, J. M. (1998). Undescended testis, torsion and varicocele. In O'Neill JA, Rowe MI, Grosfeld JL Et Al (Eds): *Pediatric Surgery*, Mosby, St. Louis, p:1087-1109.

Ilgen, O., Hortu, I., Ozceltik, G., Yigitturk, G., Erbas, O., Karadadas, N. (2020). Effects Of Methylene blue on ovarian torsion–detorsion injury in a rat model. *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology*, 33(5), 506-510.

Jarow, J. P. (1991). Clinical significance of intratesticular arterial anatomy. *The Journal of urology*, 145(4), 777-779.

Johnsen, S. G. (1970). Testicular biopsy score count—a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormone Research in Paediatrics*, 1(1), 2-25.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2009). *Temel Histoloji*. Çeviri Editörleri: Solakoğlu S. Aytekin Y. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, s: 431-443

Kaplan, Ö., & Başaran, S.Ö. (2023). Erkek Genital Sisteminin Embriyolojik Gelişimi. *Sağlık & Bilim 2022: Genel Embriyoloji-II*. Efe Akademi Yayınları, s: 85-89

Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1).

Karmazyn, B., Steinberg, R., Kornreich, L., Freud, E., Grozovski, S., Schwarz, M., Ziv, N., Livne, P. (2005). Clinical and sonographic criteria of acute scrotum in children: a retrospective study of 172 boys. *Pediatric radiology*, 35, 302-310.

Kavoussi, P.K. (2021). Surgical, radiographic, and endoscopic anatomy of the male reproductive system. In Campbell-Walsh-Wein Urology Vol. 12, s: 1370–1389.

Kazlauskas, A. (2017). Pdgfs and their receptors. *Gene*, 614, 1–7.

Khadivi, F., Koruji, M., Akbari, M., Jabari, A., Talebi, A., Movassagh, S. A., ... & Abbasi, M. (2020). Application of platelet-rich plasma (PRP) improves self-renewal of human spermatogonial stem cells in two-dimensional and three-dimensional culture systems. *Acta histochemica*, 122(8), 151627.

Kierszenbaum, A.L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Patolojiye Giriş*. Palme Yayıncılık, Ankara, s: 554.

Kiesling Jr, V. J., Schroeder, D. E., Pauljev, P., & Hull, J. (1984). Spermatic cord block and manual reduction: primary treatment for spermatic cord torsion. *The Journal of urology*, 132(5), 921-922.

Kogan, S., Owens, G., Tarter, T., Nehlsen-Cannarella, S., Bennett, B., Gill, B., & Levitt, S. (1986). Mechanisms of injury in unilateral testis torsion. *European urology*, 12(3), 184-186.

Koku, N., Ilhan, H., Tokar, B., Kara, E., Çolak, Ö. (2002). Testis torsiyonunda metilen mavisinin reperfüzyon hasarına etkisi. *Pediatric Cerrahi Dergisi*, 16, 64-68.

Kostakis, I. D., Zavras, N., Damaskos, C., Sakellariou, S., Korkolopoulou, P., Misiakos, E. P., Tsaparas, P., Vaos, G., & Karatzas, T. (2017). Erythropoietin and sildenafil protect against ischemia/reperfusion injury following testicular torsion in adult rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(6), 3341-3347.

Krurup, T. (1978). The testes after torsion. *British Journal of Urology*, 50(1), 43-46.

Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. & Mitchell, R. (2007). *Robbins Basic Pathology*. Çeviren: Çevikbaş U. Temel Patoloji. 8. basım. Nobel Tıp Kitapevleri, Bursa, s: 13-19

Kühn, A. L., Scortegagna, E., Nowitzki, K. M., & Kim, Y. H. (2016). Ultrasonography of the scrotum in adults. *Ultrasonography*, 35(3), 180.

Lacy, A., Smith, A., Koyfman, A., & Long, B. (2023). High risk and low prevalence diseases: Testicular torsion. *The American Journal of Emergency Medicine*, 66, 98-104.

Lekovic, V., Camargo, P. M., Weinlaender, M., Vasilic, N., Aleksic, Z., & Kenney, E. B. (2003). Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans. *Journal of clinical Periodontology*, 30(8), 746-751.

Lee, J. W., Lee, D. H., Park, J. K., & Han, J. S. (2019). Sodium nitrite-derived nitric oxide protects rat testes against ischemia/reperfusion injury. *Asian Journal of Andrology*, 21(1), 92.

Lee, P. J., Jiang, Y. H., & Kuo, H. C. (2021). A novel management for postprostatectomy urinary incontinence: platelet-rich plasma urethral sphincter injection. *Scientific Reports*, 11(1), 5371.

Li, Z. M. (2022). Role of antioxidants in preventing testicular ischemia-reperfusion injury: a narrative review. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 26(24).

Lian, B. S., Ong, C. C., Chiang, L. W., Rai, R., & Nah, S. A. (2015). Factors predicting testicular atrophy after testicular salvage following torsion. *European Journal of Pediatric Surgery*, 017-021.

Ling, Q., Yu, X., Wang, T., Wang, S. G., Ye, Z. Q., & Liu, J. H. (2017). Roles of the exogenous H₂S-mediated SR-A signaling pathway in renal ischemia/reperfusion injury in regulating endoplasmic reticulum stress-induced autophagy in a rat model. *Cellular physiology and biochemistry*, 41(6), 2461-2474.

Lopez-Neblina, F., Toledo, A. H., & Toledo-Pereyra, L. H. (2005). Molecular biology of apoptosis in ischemia and reperfusion. *Journal of Investigative Surgery*, 18(6), 335-350.

Lorenzini, F., Tambara Filho, R., Gomes, R. P. X., Martino-Andrade, A. J., Erdmann, T. R., & Matias, J. E. F. (2012). Long-term effects of the testicular torsion on the spermatogenesis of the contralateral testis and the preventive value of the twisted testis orchiopididymectomy. *Acta cirurgica brasileira*, 27, 388-395.

Madarikan, B. A. (1987). Testicular salvage following spermatic cord torsion. *Journal of Pediatric Surgery*, 22(3), 231-234.

Man, D., Plosker, H., & Winland-Brown, J. E. (2001). The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plastic and reconstructive surgery*, 107(1), 229-236.

Mansbach, J. M., Forbes, P., & Peters, C. (2005). Testicular torsion and risk factors for orchiectomy. *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, 159(12), 1167-1171.

Martin-Sole, O., Rodo, J., Garcia-Aparicio, L., Blanch, J., Cusi, V., & Albert, A. (2016). Effects of platelet-rich plasma (PRP) on a model of renal ischemia-reperfusion in rats. *PLoS One*, 11(8), e0160703.

Martins, R. P., Hartmann, D. D., de Moraes, J. P., Soares, F. A. A., & Puntel, G. O. (2016). Platelet-rich plasma reduces the oxidative damage determined by a skeletal muscle contusion in rats. *Platelets*, 27(8), 784-790.

Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?. *Implant dentistry*, 10(4), 225-228.

Mastrogriacomo, I., Zanchetta, R., Graziotti, P., Betterle, C., Scrufari, P., & Lembo, A. (1982). Immunological and clinical study in patients after spermatic cord torsion. *Andrologia*, 14(1), 25-30.

McCully, J. D., Wakiyama, H., Hsieh, Y. J., Jones, M., & Levitsky, S. (2004). Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 286(5), H1923-H1935.

MacLennan, G.T. (2012). *Hinman's Atlas of UroSurgical Anatomy E-Book: Expert Consult Online and Print*. Elsevier Health Sciences, s: 335-360

Mei-Dan, O., Lippi, G., Sánchez, M., Andia, I., & Maffulli, N. (2010). Autologous platelet-rich plasma: a revolution in soft tissue sports injury management?. *The Physician and sportsmedicine*, 38(4), 127-135.

Mellick, L. B., Sinex, J. E., Gibson, R. W., & Mears, K. (2019). A systematic review of testicle survival time after a torsion event. *Pediatric emergency care*, 35(12), 821-825.

Melloul, M., Paz, A., Lask, D., Manes, A., & Mukamel, E. (1995). The value of radionuclide scrotal imaging in the diagnosis of acute testicular torsion. *British journal of urology*, 76(5), 628-631.

Mickle, D. A., & Weisel, R. D. (1993). Future directions of vitamin E and its analogues in minimizing myocardial ischemia-reperfusion injury. *The Canadian journal of cardiology*, 9(1), 89-93.

Mininberg, D. T., Chen, M. E., & Witkin, S. S. (1993). Antisperm antibodies in cryptorchid boys. *European journal of pediatrics*, 152, 23-24.

Mishra, A., Velotta, J., Brinton, T. J., Wang, X., Chang, S., Palmer, O., ... & Fischbein, M. (2011). RevaTen platelet-rich plasma improves cardiac function after myocardial injury. *Cardiovascular Revascularization Medicine*, 12(3), 158-163.

Mogilner, J. G., Elenberg, Y., Lurie, M., Shiloni, E., Coran, A. G., & Sukhotnik, I. (2006). Effect of dexamethasone on germ cell apoptosis in the contralateral testis after testicular ischemia– reperfusion injury in the rat. *Fertility and Sterility*, 85, 1111-1117.

Moore, K. ve Persaud, T. (2008). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Çeviri: Dalçık H., Yıldırım M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, s: 524.

Mor Y, Pinthus JH, Nadu A, Raviv G, Golomb J, Winkler H, & Ramon J. Testicular fixation following torsion of the spermatic cord—does it guarantee prevention of recurrent torsion events?. *The Journal of Urology*. 2006;175(1):171-173.

Murphy, J.P. (2003). The acute scrotum. In Ziegler MM, Azizkhan RG, Weber TR (eds). Operative Pediatric Surgery. New York, Mc Graw-Hill, p: 563-567.

Nagler, H. M., & White, R. D. (1982). The effect of testicular torsion on the contralateral testis. The Journal of urology, 128(6), 1343-1348.

Nisbet, H.Ö. (2007). The use of platelet rich plasma and platelet poor plasma in wound management. Journal of Istanbul Veterinary Sciences, 1, 1-14.

Noseworthy, J. (2000). Testicular torsion. In Ashcraft KW et al (eds): Pediatric Surgery. Philadelphia, W.B.Saunders Company, p: 674-680.

Noske, H. D., Kraus, S. W., Altinkilic, B. M., & Weidner, W. (1998). Historical milestones regarding torsion of the scrotal organs. The Journal of urology, 159(1), 13-16.

Nurden, A. T., Nurden, P., Sanchez, M., Andia, I., & Anitua, E. (2008). Platelets and wound healing. Front Biosci, 13(9), 3532-48.

Oh, J. S., Do, N. V., Clouser, M., Galarneau, M., Philips, J., Katschke, A., ... & Kuncir, E. J. (2015). Effectiveness of the combat pelvic protection system in the prevention of genital and urinary tract injuries: an observational study. Journal of Trauma and Acute Care Surgery, 79(4), 193-S196.

Ornellas, F. M., Ornellas, D. S., Martini, S. V., Castiglione, R. C., Ventura, G. M., Rocco, P. R., ... & Morales, M. M. (2017). Bone marrow-derived mononuclear cell therapy accelerates renal ischemia-reperfusion injury recovery by modulating inflammatory, antioxidant and apoptotic related molecules. Cellular Physiology and Biochemistry, 41(5), 1736-1752.

Oztan, M. O., Oztan, S., Duzenli, N., Olukman, M., & Koyluoglu, G. (2018). The effect of platelet-rich plasma on motility changes in experimental caustic esophageal burn. Esophagus, 15, 198-204.

Ozturk, H., Ozturk, H., Terzi, E. H., Bugdayci, G., & Duran, A. (2014). Interleukin 10 reduces testicular damage in experimental testicular ischemia/reperfusion injury. Urology, 83(2), 508-e1.

Özdiler, O., ve Aydos, K. (2000). Klinik Androloji. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s: 1-20.

Pallares, P., & Gonzalez-Bulnes, A. (2009). A new method for induction and synchronization of oestrus and fertile ovulations in mice by using exogenous hormones. Laboratory animals, 43(3), 295-299.

Parma, L., Peters, H. A., Sluiter, T. J., Simons, K. H., Lazzari, P., de Vries, M. R., & Quax, P. H. (2020). bFGF blockade reduces intraplaque angiogenesis and macrophage

infiltration in atherosclerotic vein graft lesions in ApoE3* Leiden mice. *Scientific Reports*, 10(1), 15968.

Paulsen, F., Böckers, T. M., & Waschke, J. (Eds.). (2018). *Sobotta anatomy textbook: English edition with Latin nomenclature*. Elsevier Health Sciences, p: 219

Prader, A. (1966). Testicular Size: Assessment and Clinical Importance. *Triangle*, 7(6), 240-243.

Raman, J. D., & Goldstein, M. (2004). Intraoperative characterization of arterial vasculature in spermatic cord. *Urology*, 64(3), 561-564.

Rauchenwald, M., Steers, W. D., & Desjardins, C. (1995). Efferent innervation of the rat testis. *Biology of reproduction*, 52(5), 1136-1143.

Rezaei, M., Badiei, R., & Badiei, R. (2019). The effect of platelet-rich plasma injection on post-internal urethrotomy stricture recurrence. *World Journal of Urology*, 37, 1959-1964.

Ringdahl, E., & Teague, L. (2006). Testicular torsion. *American family physician*, 74(10), 1739-1743.

Robb, G. W., Amann, R. P., & Killian, G. J. (1978). Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *Reproduction*, 54(1), 103-107.

Roberts, A. B., Anzano, M. A., Wakefield, L. M., Roche, N. S., Stern, D. F., & Sporn, M. B. (1985). Type beta transforming growth factor: a bifunctional regulator of cellular growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(1), 119-123.

Roosen-Runge, E. C., & Holstein, A. F. (1978). The human rete testis. *Cell and Tissue Research*, 189(3), 409-433.

Rosenberg, H., Long, B., & Keays, M. (2021). Just the facts: assessment and management of testicular torsion in the emergency department. *Canadian Journal of Emergency Medicine*, 23(6), 740-743.

Russell, L. D., Saxena, N. K., & Weber, J. E. (1987). Intratesticular injection as a method to assess the potential toxicity of various agents and to study mechanisms of normal spermatogenesis. *Gamete research*, 17(1), 43-56.

Sadler, T.W., (2012). *Langman's Medical Embryology*. 12'th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkinis, p: 243-259.

Sağnak Akıllı, M. (2018). *Deneysel Testis Torsiyonu Modeli Oluşturulan Sıçanlarda, Kısa Ve Uzun Dönem Torsiyona Bağlı Hasarda Trombositten Zengin Plazmanın Etkinliği*, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara (Danışman: Doç. Dr. T Acer Demir).

Samy, A., El-Adl, M., Rezk, S., Marghani, B., Eldomany, W., Eldesoky, A., & Elmetwally, M. A. (2020). The potential protective and therapeutic effects of platelet-rich plasma on ischemia/reperfusion injury following experimental torsion/detorsion of testis in the Albino rat model. *Life sciences*, 256, 117982.

Sargon, M.F. (2016). *Anatomi Akıl Notları*. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara, s: 285-289.

Sarma, A. D., Mallick, A. R., & Ghosh, A. K. (2010). Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 1(3), 185-192.

Sauvat, F., Hennequin, S., Slimane, M. A. A., & Gauthier, F. (2002). Un âge pour la torsion testiculaire?. *Archives de pédiatrie*, 9(12), 1226-1229.

Schuenke, M., Schulte, E., Schumacher, U. (2019). *Internal Organs (THIEME Atlas of Anatomy)*. Vol. 2, Thieme Medical Publishers, p: 322.

Sekerci, C. A., Tanidir, Y., Sener, T. E., Sener, G., Cevik, O., Yarat, A. Y., Alev-Tuzuner, B., Kervancioglu, E., Sahan, A., Akbal, C. (2017). Effects of platelet-rich plasma against experimental ischemia/reperfusion injury in rat testis. *Journal of pediatric urology*, 13(3), 317-e1.

Sen, S., & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In *Oxidative stress: diagnostics, prevention, and therapy*. American Chemical Society, s: 1-37

Setchell, B.P., and Brooks, D.E. (1988). "Seminal plasma." *The physiology of reproduction*. Vol. 813. Raven Press New York, p: 1105-1112.

Sharp, V.J., Kieran, K., Arlen, A.M. (2013). Testicular torsion: diagnosis, evaluation, and management. *Am Fam Physician*, 88, 835–840.

Shimizu, S., Tsounapi, P., Dimitriadis, F., Higashi, Y., Shimizu, T., & Saito, M. (2016). Testicular torsion–detorsion and potential therapeutic treatments: A possible role for ischemic postconditioning. *International Journal of Urology*, 23(6), 454-463.

Short, D. J., & Woodnott, D. P. (1969). *The LA. T. manual of laboratory animal practice and techniques*. The LA. T. manual of laboratory animal practice and techniques., (2nd Edit), p: 462

Srinivasan, A., Cinman, N., Feber, K. M., Gitlin, J., & Palmer, L. S. (2011). History and physical examination findings predictive of testicular torsion: an attempt to promote clinical diagnosis by house staff. *Journal of pediatric urology*, 7(4), 470-474.

Stillwell, T. J., & Kramer, S. A. (1986). Intermittent testicular torsion. *Pediatrics*, 77(6), 908-911.

Sukhotnik, I., Voskoboinik, K., Lurie, M., Coran, A. G., Greenblatt, R., Shiloni, E., Eldar, S., Mogilner, J.G. (2007). Effect of testicular ischemia-reperfusion on recruitment of neutrophils, E-selectin expression and germ cell apoptosis in the contralateral testis in a rat. *Pediatric surgery international*, 23, 479-485.

Sumii, K., Miyake, H., Enatsu, N., Chiba, K., & Fujisawa, M. (2016). Characterization of urocortin as an anti-apoptotic protein in experimental ischemia-reperfusion model of the rat testis. *Biochemical and biophysical research communications*, 479(2), 387-392.

Şahin, F., Arıkan, F., Yeşilbek, B., Saydam, G., Büyükkeçeci, F. (2004). Periodontik kemik greftlerinin yapışmasında etkin olarak kullanılan trombositten zengin plazma eldesinde farklı metotların karşılaştırılması. *Turkish Journal of Haematology (Supplement)*, 21:3.

Şeftalioğlu, A. (1998). Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. 3. baskı, Ankara: Tıp & Teknik Yayıncılık Ltd. Şti, s: 346-350.

Taati, M., Moghadasi, M., Dezfoulıan, O., Asadian, P., & Zendeıdel, M. (2015). Effects of Ghrelin on germ cell apoptosis and proinflammatory cytokines production in Ischemia-reperfusion of the rat testis. *Iranian journal of reproductive medicine*, 13(2), 85.

Taguchi, K., Tsukamoto, T., Murakami, G. (1999). Anatomical studies of the autonomic nervous system in the human pelvis by the whole mount staining method: Left-right communicating nerves between bilateral pelvic plexues. *The Journal of Urology*, 161, 320-325.

Tishler, P. V. (1971). Diameter of testicles. *The New England journal of medicine*, 285(26), 1489.

Trama, F., Illiano, E., Marchesi, A., Brancorsini, S., Crocetto, F., Pandolfo, S. D., Zucchi, A., & Costantini, E. (2021). Use of intravesical injections of platelet-rich plasma for the treatment of bladder pain syndrome: a comprehensive literature review. *Antibiotics*, 10(10), 1194.

Tryfonas, G., Violaki, A., Tsikopoulos, G., Avtzoglou, P., Zioutis, J., Limas, C., Gregoriadis, G., & Badoraki, M. (1994). Late postoperative results in males treated for testicular torsion during childhood. *Journal of pediatric surgery*, 29(4), 553-556.

Tu, Y. P., Chen, S. C., Liu, Y. H., Chen, C. F., & Hour, T. C. (2013). Postconditioning with far-infrared irradiation increases heme oxygenase-1 expression and protects against ischemia/reperfusion injury in rat testis. *Life sciences*, 92(1), 35-41.

Turner, T. T. (1985). Acute experimental testicular torsion: no effect on the contralateral testis. *Journal of andrology*, 6(1), 65-72.

Turner, T. T., Bang, H. J., & Lysiak, J. J. (2005). Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology*, 65(2), 390-394.

Ünsal, A., Devrim, E., Guven, C., Eroglu, M., Durak, I., Bozoklu, A., & Balbay, M. D. (2004). Propofol attenuates reperfusion injury after testicular torsion and detorsion. *World journal of urology*, 22, 461-465.

Vakili-Sadeghi, E., Najafpour, A., Mohammadi, R. (2023). Protective effects of propolis on ischemia-reperfusion injury in a rat testicular torsion and detorsion model. *Veterinary Research Forum*, 14(7), 389-395.

Valeriya, Z., Olena, K., & Olena, K. (2014). Platelet-rich plasma induces morphofunctional restoration of mice testes following doxorubomycine hydrochloride exposure. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 31(3), 183-187.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J. (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and cellular biochemistry*, 266, 37-56.

Van Glabeke, E., Khairouni, A., Larroquet, M., Audry, G., & Gruner, M. (1999). Acute scrotal pain in children: results of 543 surgical explorations. *Pediatric surgery international*, 15, 353-357.

Visser, A. J., & Heyns, C. F. (2003). Testicular function after torsion of the spermatic cord. *BJU international*, 92(3), 200-203.

Wasterlain, A. S., Braun, H. J., & Dragoo, J. L. (2016). Contents and formulations of platelet rich plasma. *Platelet Rich Plasma in musculoskeletal practice*, 22, 1-29.

Wei, S. M., & Huang, Y. M. (2022). Baicalein alleviates testicular ischemia-reperfusion injury in a rat model of testicular torsion-detorsion. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 1603469.

Weibrich, G., Kleis, W. K., Hafner, G., & Hitzler, W. E. (2002). Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*, 30(2), 97-102.

Wilhelm Filho, D., Torres, M. A., Bordin, A. L., Crezcynski-Pasa, T. B., & Boveris, A. (2004). Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Molecular aspects of medicine*, 25(1-2), 199-210.

Wroblewski, A. P., Mejia, H. A., & Wright, V. J. (2010). Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Operative Techniques in Orthopaedics*, 20(2), 98-105.

Wu, M. Y., Yiang, G. T., Liao, W. T., Tsai, A. P. Y., Cheng, Y. L., Cheng, P. W., ... & Li, C. J. (2018). Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 46(4), 1650-1667.

Xu, Z., Liu, G., Liu, P., Hu, Y., Chen, Y., Fang, Y., ... & Wu, J. (2022). Hyaluronic acid-based glucose-responsive antioxidant hydrogel platform for enhanced diabetic wound repair. *Acta biomaterialia*, 147, 147-157.

Yan, S. L., Wu, S. T., Yin, M. C., Chen, H. T., & Chen, H. C. (2009). Protective effects from carnosine and histidine on acetaminophen-induced liver injury. *Journal of food science*, 74(8), H259-H265.

Yun, Y. R., Won, J. E., Jeon, E., Lee, S., Kang, W., Jo, H., ... & Kim, H. W. (2010). Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration. *Journal of tissue engineering*, 1(1), 218142.

Yuva , E., Tu lu, D., K sa,  ., Bozdo an,  ., Batislam, E., & Y lmaz, E. (2017). Deneysel Testis Torsiyonu Sonrası  skemi/Reperf zyon Hasarında  loprost Ve D    k Doz Metotreksat'ın Koruyucu Etkisi, 19(3), 131-138

Zanchetta, R., Mastrogiacomo, I., Graziotti, P., Foresta, C., & Betterle, C. (1984). Autoantibodies against Leydig cells in patients after spermatic cord torsion. *Clinical and experimental immunology*, 55(1), 49.

Zhao, L. C., Lautz, T. B., Meeks, J. J., & Maizels, M. (2011). Pediatric testicular torsion epidemiology using a national database: incidence, risk of orchiectomy and possible measures toward improving the quality of care. *The Journal of urology*, 186(5), 2009-2013.

Zimmerman, B. J., & Granger, D. N. (1992). Reperfusion injury. *Surgical Clinics of North America*, 72(1), 65-83.

7. EKLER

EK 1

SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
ARAŞTIRMA ONAY BELGESİ

SAKARYA UNIVERSITY
ANIMAL EXPERIMENTS LOCAL ETHIC COMMITTEE
RESEARCH APPROVAL CERTIFICATE

Araştırmanın Adı <i>Title of the Research</i>	Testiküler İskemi-Reperfüzyon Hasarı Olan Ratlarda PRP Kullanımının Sperm Fonksiyonlarına Etkisinin in vitro Fertilizasyon (IVF) ile Değerlendirilmesi
Yürütücü <i>Chief investigator</i>	Doç. Dr. Osman KÖSE
Yrd. Araştırmacı(lar) <i>Co-investigator(s)</i>	Asis. Dr. Burak UYSAL, Dr. Öğr. Üyesi Özcan BUDAK, Opr. Dr. Yavuz Tank ATİK, Prof. Dr. Ahmet GÖKÇE, Doç. Dr. M. Sühha BOSTANCI
Araş. Başlama Tarihi/Research Starting Date	
Proje Süresi/Total Time of Project	6 ay
Kullanılan Hayvan Türü/Animal Species	Rat/ Sprague-Dawley
Kullanılan Hayvan Cinsiyeti ve Sayısı/Animal Sex and number	Erkek-Dişi- 62 adet
Araş. Destekleyen Kuruluş (varsa) <i>Funding institution(s) (if available)</i>	-
Destek Şekli ve Miktarı <i>Type and amount of funding</i>	-
Karar: Çalışmada hayvan türü olarak Wistar-Albino kullanılması talebinin Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 01 / 06 / 2022 tarih ve 33 sayılı kararı ile; yukarıda bilgileri verilen araştırma projesinin ☒ gerçekleştirilmesinin Uygun Olduğuna Karar Verilmiştir. ☐ Yeniden düzenlenmesine Karar Verilmiştir. ☐ gerçekleştirilmesinin Uygun Olmadığına Karar Verilmiştir.	
Decision: With the decision of the Local Ethics Committee of Animal Experiments of Sakarya University dated 01/06/2022 and numbered 33 ; it has been decided that above mentioned research project is ☒ Appropriate to carry out. ☐ Rearranged ☐ Not Appropriate to carry out.	

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Burak	Soyadı	Uysal
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu		Tel	
E-mail			
Eğitim Düzeyi	Mezun Olduğu Kurumun Adı		Mezuniyet Yılı
Lisans			
İş Deneyimi			
Görevi	Kurum		Süre (Yıl - Yıl)
Pratisyen			
Asistan			
Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*