



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2025; 39 (3): 164 - 168
<http://www.fusabil.org>

Trombositten Zengin Plazma (PRP) İçeren Sperma ile Tohumlanan Koyunlarda Bazı Reprodüktif Parametreler *

İbrahim Halil GÜNGÖR ^{1, a}
Nida BADILLI ^{1, b}
Tutku Can ACISU ^{1, c}
Aslıhan ÇAKIR CİHANGİROĞLU ^{2, d}
Serap DAYAN CİNKARA ^{1, e}
Şuheda YÜKSEL ^{1, f}
Şeyma ÖZER ^{1, g}
Seyfettin GÜR ^{1, h}
Mustafa SÖNMEZ ^{1, i}
Gaffari TÜRK ^{1, j}

¹ Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni Tohumlama
Ana Bilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

² Siirt Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni Tohumlama
Ana Bilim Dalı,
Siirt, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-5250-1478

^b ORCID: 0000-0002-1007-9723

^c ORCID: 0000-0002-0882-937X

^d ORCID: 0000-0003-3365-8960

^e ORCID: 0000-0003-2992-8729

^f ORCID: 0009-0004-0895-3014

^g ORCID: 0000-0002-9970-9364

^h ORCID: 0000-0003-0096-2501

ⁱ ORCID: 0000-0003-0281-7228

^j ORCID: 0000-0001-7417-1038

Geliş Tarihi : 30.05.2025

Kabul Tarihi : 16.09.2025

Yazışma Adresi

İbrahim Halil GÜNGÖR

Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni
Tohumlama Ana Bilim Dalı
Elazığ – TÜRKİYE

ihgungor@firat.edu.tr

Bu çalışmada, intraepididimal yolla otolog PRP uygulanmış koçlardan elde edilen dondurulmuş spermalar ile, sperma sulandırıcılarında homolog PRP içeren dondurulmuş spermalarla intraservikal suni tohumlama yöntemi kullanılarak tohumlanan koyunlardan elde edilen gebelik oranlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, intravajinal süngerler kullanılarak 75 Akkaraman koyunu senkronize edildi ve her biri 25 hayvandan oluşan üç gruba ayrıldı. Grup 1: PRP içermeyen dondurulmuş spermalarla (Kontrol grubu), Grup 2: koçlara intraepididimal PRP uygulanarak elde edilen dondurulmuş spermalarla (*In vivo* PRP grubu), Grup 3: sulandırıcısında %5 oranında PRP içeren dondurulmuş spermalarla (*In vitro* PRP grubu) tohumlandı. Her bir gruptaki hayvanlara ait gebelik süresi, kuzulama oranı, çoklu doğum oranı, dişi ve erkek kuzu oranları ile kuzu doğum ağırlığı gibi reprodüktif parametreler kayıt altına alındı. *In vitro* PRP grubundaki gebelik oranı kontrol ve *in vivo* PRP grubuna göre daha yüksek bulunsu da istatistiki açıdan önemli değildi. Gebelik süreleri yönünden tüm gruplar arasında gözlenen farklılıklar anlamsızdı. Kontrol ve *in vivo* PRP grubundaki tüm koyunlar tekli doğum yaparken, *in vitro* PRP grubundaki bir koyun ikiz doğum yaptı. Gruplar arasında çoklu doğum oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilemedi. Dişi ve erkek kuzu oranları ile kuzu doğum ağırlıkları yönünden gruplar arasında gözlenen farklılıklar istatistiki olarak anlamlı değildi. Sonuç olarak; *in vivo* PRP'nin reprodüktif parametreler üzerine herhangi bir etkisi olmasa da, reprodüktif parametrelerde gözlenen hafif bir artışa istinaden %5 *in vitro* PRP içeren dondurulmuş-çözdürülmüş sperma ile intraservikal tohumlama tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Koyun, gebelik oranı, *in vitro/in vivo* PRP, intraservikal suni tohumlama, koç sperması

Some Reproductive Parameters in Ewes Inseminated with Platelet-Rich Plasma (PRP)-Supplemented Semen

In this study, it was aimed to evaluate the pregnancy rates obtained from ewes inseminated by intracervical artificial insemination with frozen semen obtained from rams treated with autologous PRP intraepididymally and frozen semen containing homologous PRP in semen diluents. For this purpose, 75 Akkaraman ewes were synchronized using intravaginal sponges and divided into three groups, each consisting of 25 animals. Group 1: inseminated with frozen semen without PRP (Control group), Group 2: inseminated with frozen semen obtained by intraepididymal PRP application to rams (*In vivo* PRP group), Group 3: inseminated with frozen semen containing 5% PRP in its diluent (*In vitro* PRP group). Reproductive parameters including gestation period, lambing rate, multiple birth rate, female and male lamb ratios and lamb birth weight were recorded for each group. Although the pregnancy rate in the *In vitro* PRP group was higher than in the control and *in vivo* PRP groups, it was not statistically significant. The differences observed between all groups in terms of gestation periods were not significant. All sheep in the Control and *In vivo* PRP groups gave single births, while one sheep in the *In vitro* PRP group gave twin births. There was no significant difference between the groups in terms of multiple birth rates. The differences observed between the groups in terms of female and male lamb ratios and lamb birth weights were not statistically significant. In conclusion, although *in vivo* PRP has no effect on reproductive parameters, intracervical insemination with frozen-thawed semen containing 5% *in vitro* PRP is recommended based on the slight increase observed in reproductive parameters.

Key Words: Sheep, Pregnancy rate, *In vitro/in vivo* PRP, Intracervical artificial insemination, Ram semen

Giriş

Küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde genetik seleksiyonun hızlandırılması ve sürü verimliliğinin artırılması amacıyla suni tohumlama, yaygın olarak kullanılan bir reprodüktif biyoteknoloji yöntemidir. Özellikle spermanın dondurularak saklanabilmesi, genetik materyalin uzun yıllar boyunca kullanılmasına olanak tanımaktadır. Ancak, kriyoprezervasyon işlemi sırasında spermatozoonlar ciddi düzeyde fizyolojik ve biyokimyasal strese maruz kalmakta, bu durum sperm motilitesi, membran bütünlüğü, mitokondriyal fonksiyonlar ve DNA bütünlüğü gibi temel fertilitite parametrelerinde bozulmalara yol açmaktadır (1, 2).

* Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK-Grant No: 120O558) tarafından finansal olarak desteklenmiştir.

Koç spermatozoonlarının dondurma-çözme sürecine karşı duyarlılığı, suni tohumlama sonrası gebelik oranlarının istenilen düzeye ulaşamamasının temel nedenlerinden biridir. Bu nedenle, son yıllarda kriyoprezervasyonun zararlı etkilerine karşı koruyabilecek yeni biyolojik katkı maddelerinin kullanımı gündeme gelmiştir. Bukatkılar arasında, zengin biyolojik içeriği sayesinde dikkat çeken trombosit zengin plazma (platelet-rich plasma, PRP), hücre rejenerasyonunu destekleme potansiyeliyle öne çıkmaktadır (3, 4). PRP; yüksek konsantrasyonda trombosit içeren, otolog veya homolog olarak hazırlanabilen biyolojik bir üründür. İçeriğinde yer alan büyüme faktörleri (PDGF, TGF- β , VEGF, IGF, vb.), sitokinler ve antioksidan bileşenler sayesinde anti-inflamatuvar ve hücre koruyucu etkilere sahiptir (3). Veteriner hekimlikte doku iyileşmesini destekleyici özelliğiyle başta ortopedi ve yumuşak doku onarımı olmak üzere çeşitli alanlarda kullanılan PRP, son yıllarda erkek fertilitésinin korunması ve iyileştirilmesine yönelik araştırmalarda da değerlendirilmeye başlanmıştır. Özellikle sperm kalitesini artırma, oksidatif hasarı azaltma ve hücre canlılığı koruma yönünde umut verici sonuçlar elde edilmiştir (5).

Bu çalışmada, intraepididimal yolla otolog PRP uygulanmış koçlardan elde edilen dondurulmuş spermalar ile, homolog PRP içeren dondurulmuş spermaların fertilité kapasiteleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Dondurulmuş-çözdürülmüş spermalar, intraservikal suni tohumlama yöntemi kullanılarak koyunlara uygulanmış ve gebelik oranları temel fertilité kriteri olarak analiz edilmiştir. Bu bağlamda, hem *in vitro* hem de *in vivo* düzeyde PRP uygulamalarının kriyoprezervasyon sırasında spermatozoonlar üzerinde oluşturabileceği faydalı etkilerinden yararlanarak, koyunlarda suni tohumlama başarısı üzerindeki etkilerinin araştırılması, literatürdeki önemli bir boşluğu dolduracak ve reproduktif biyoteknolojilere biyolojik katkı maddesi entegrasyonu konusunda yeni perspektifler sunacaktır.

Gereç ve Yöntem

Araştırma ve Yayın Etiği: Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 2020/05 protokol numarasıyla etik onay alınmıştır.

Hayvan Materyali: PRP'nin spermanın *in vivo* ve *in vitro* fertilitésini üzerine etkisini tespit etmek için en az bir doğum yapmış genel ve genital hastalığı bulunmayan 75 baş Akkaraman koyun kullanıldı. Bu aşamadaki senkronizasyon ve tohumlama işlemleri üreme mevsimi dışındaki Temmuz ayında gerçekleştirildi.

Senkronizasyon Protokolü, Koyunların Gruplandırılması ve Tohumlanması: Senkronizasyon amacıyla tüm koyunların vajinasına vulva dezenfeksiyonu yapıldıktan sonra progestagen emdirilmiş intravajinal süngerler (Chronogest® CR, 20 mg flurogestan asetat/sünger, Igoville, France) yerleştirildi ve 12 gün boyunca burada kalması sağlandı. Süngerin çıkarıldığı gün hayvanlara 600 IU eCG (Chrono-Gest/PMSG, 6000 IU/25 mL, MSD Animal Health, Unterschleissheim, Almanya) enjeksiyonu yapıldı ve koyunlar her birinde 25 baş olacak şekilde 3 gruba

ayrıldı. Birinci gruptaki hayvanları (kontrol) herhangi bir uygulama yapılmayan koçlara ait dondurulmuş spermalar ile tohumlanan koyunlar oluşturdu. İkinci gruptaki hayvanları (*In vivo* PRP grubu) intraepididimal PRP enjeksiyonundan (12 Akkaraman ırkı koça 15 günde 1 defa PRP enjeksiyonu, toplamda 6 enjeksiyon, her enjeksiyonda 0.2 mL, 150-200 milyon trombosit içeriği ile enjekte edildi. Spermalar her enjeksiyondan 15 gün sonra toplandı) sonra dondurulan spermalar ile tohumlanan koyunlar, üçüncü gruptaki hayvanları (*In vitro* PRP grubu) ise *in vitro* en iyi sonuca sahip PRP konsantrasyonunu (%5) içeren dondurulmuş spermalar ile tohumlanan koyunlar oluşturdu. Kullanılan bu spermalara ait ortalama spermatolojik veriler; kontrol grubu için; total motilite: %38.53, total anormalite: %2.08, canlılık düzeyi: %44.29, *In vivo* PRP grubu için; total motilite: %51.40, total anormalite: %7.50, canlılık düzeyi: %53.36, *In vitro* PRP grubu için; total motilite: %49.88, total anormalite: %1.75, canlılık düzeyi: %51.75'tir. Tohumlama yöntemi olarak intraservikal metot kullanıldı. Süngerlerin çıkarılmasından sonraki 48. ve 60. saatlerde iki kez yapılan sabit zamanlı tohumlama için, perineal bölgenin dezenfeksiyonundan sonra vulva spekülüm ile açılarak serviksin vajinaya bakan kısmı baş lambası ile aydınlatıldı ve kateterle serviksin orifisyum uteri eksternasına 1 cm kadar girilerek sperma serviksin içerisine bırakıldı.

Gebelik ve Bazı Reprodüktif Parametrelerin

Kontrolü: Gebeliklerin kontrolü tohumlama sonrası 45-50. günler arasında real-time ultrasonografi ve 7.5 MHz lineer prob (Sonosite M-Turbo renkli doppler ultrason, Fujifilm, Bothell, Washington, ABD) yardımıyla transrektal olarak yapıldı. Her bir gruptaki hayvanlara ait gebelik süreleri, kuzulama oranları, çoklu kuzulama oranları, dişi ve erkek kuzu oranları ile kuzu doğum ağırlıkları gibi reproduktif veriler kayıt altına alındı.

İstatistik Analiz: Tüm veriler SPSS 22.0 programında analiz edildi. Sürekli değişkenler (gebelik süresi, kuzu doğum ağırlığı) öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılım açısından değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için gruplar arası farklar tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ve post-hoc Tukey HSD testi ile karşılaştırıldı. Kategorik değişkenler (gebelik oranı, kuzulama oranı, çoklu kuzulama, dişi kuzu ve erkek kuzu oranları) için ise, düşük hücre frekansına sahip değişkenlerde (çoklu kuzulama, dişi ve erkek kuzu oranları) Fisher's Exact Test uygulandı. Hücre frekansları yeterli olan değişkenlerde (gebelik oranı) Pearson Ki-kare testi uygulandı. Kuzulama oranı tüm gruplarda %100 olduğu için istatistiksel analiz uygulanmadı. Tüm testler iki yönlü olarak değerlendirildi ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Reproduktif Parametrelere İlişkin Veriler:

Kontrol, ikinci aşamada intraepididimal PRP uygulanmış hayvanların dondurulmuş-çözdürülmüş spermaları (*In vivo* PRP grubu) ve üçüncü aşamada %5 PRP katılan dondurulmuş-çözdürülmüş spermalar (*In vitro* PRP grubu) kullanılarak intraservikal tohumlanan koyunlardan elde edilen reproduktif parametrelere ilişkin veriler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Kontrol ve farklı PRP uygulamalarıyla hazırlanan dondurulmuş-çözdürülmüş spermalarla tohumlanan koyunlardaki bazı reproduktif parametrelere ilişkin veriler

Değişkenler	Kontrol	PRP		Test İstatistiği	p-değeri
		İnvivo	İnvitro		
Gebelik Oranı (%)	20.00 (5/25)	20.00 (5/25)	28.00 (7/25)	$\chi^2=0.61$	0.738
Gebelik Süresi (gün)	152.80±0.86	149.00±1.18	151.14±1.14	F=2.60	0.109
Kuzulama Oranı (%)	100.00 (5/5)	100.00 (5/5)	100.00 (7/7)	-	-
Çoklu Kuzulama Oranı (%)	0.00 (0/5)	0.00 (0/5)	14.29 (1/7)	Fisher's Exact	0.468
Dişi Kuzu Oranı (%)	60.00 (3/5)	40.00 (2/5)	37.50 (3/8)	Fisher's Exact	0.784
Erkek Kuzu Oranı (%)	40.00 (2/5)	60.00 (3/5)	62.50 (5/8)	Fisher's Exact	0.784
Kuzu Doğum Ağırlığı (kg)	4.10±0.13	4.17±0.17	4.04±0.23	F=0.11	0.892

Kuzulama oranı tüm gruplarda %100 olduğundan istatistiksel analiz uygulanmamıştır.

χ^2 = Pearson Ki-kare değeri, F = ANOVA test istatistiğidir.

Gebelik Oranı ve Süresi: *In vitro* PRP grubundaki gebelik oranı kontrol ve *In vivo* PRP grubuna göre daha yüksek bulunsada istatistiki açıdan önemli değildi. Benzer şekilde gebelik süreleri yönünden tüm gruplar arasında gözlenen farklılıklar anlamsızdı (Tablo 1).

Kuzulama Oranı: Tüm gruplarda gebe kalan koyunların hepsi doğum yaptıklarından dolayı kuzulama oranı %100 olarak tespit edildi. Kontrol ve *In vivo* PRP grubundaki tüm koyunlar tekli doğum yaparken, *In vitro* PRP grubundaki bir koyun ikiz doğum yaptı. Gruplar arasında çoklu doğum oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilemedi (Tablo 1).

Cinsiyet Oranı ve Kuzu Doğum Ağırlığı: Dişi ve erkek kuzu oranları ile kuzu doğum ağırlıkları yönünden gruplar arasında gözlenen farklılıklar istatistiki olarak anlamlı değildi (Tablo 1).

Tartışma

Suni tohumlama, çiftlik hayvanlarının genetik kapasitesini iyileştirmek için uygulanan ilk ve önemli biyoteknolojik yöntemdir. Yüksek üretkenlik potansiyeline sahip erkeklerin arzu edilen özelliklerinin hızlı bir şekilde yayılmasını sağlar (6). Koyunlarda taze ve soğutulmuş sperma ile intraservikal suni tohumlama kabul edilebilir gebe kalma oranları sağlarken, her iki spermanın da kısa raf ömrü ve birim zamanda elde edilebilecek sperma dozu sayısındaki doğal sınırlama, erkek damızlıkların yaygın kullanımını kısıtlamaktadır (7). Bu nedenle, suni tohumlama yoluyla genetik faydaları en üst düzeye çıkarmak için dondurulmuş-çözdürülmüş sperma kullanımı bir ön koşuldur. Bununla birlikte dondurulmuş-çözdürülmüş sperma ile iyi bir fertilizasyon oranı, invaziv ve saha şartlarında kullanımı zor olan laparoskopik yöntem kullanılmasını gerektirir. Bunun yerine saha şartlarında kullanımı daha kolay olan intraservikal yöntemle dondurulmuş-çözdürülmüş spermalarından elde edilen fertilizasyon oranları taze ve soğutulmuş spermaya göre düşük kalmaktadır (8). Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma ile intraservikal tohumlamadan elde edilen düşük gebelik oranları, dondurma-çözdürme işlemi sırasında spermatozoanın hasar görmesine ve bunun sonucunda sperm transportunun, canlılığının ve dölleme kapasitesinin

bozulmasına ve embriyonik mortalitenin artmasına bağlanmaktadır (8, 9). Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma ile intraservikal tohumlanan koyunlardaki gebelik oranlarının üreme sezonu dışında %18 düzeylerinde kaldığı (10), üreme sezonunda ise %42-58 arasında değiştiği (11-13) bildirilmiştir. Bu çalışmada üreme sezonu dışında tohumlanan kontrol grubu hayvanlardan elde edilen %20 oranındaki gebelik oranı, Yamaki ve ark. (10)'nin bulgularına benzer bulunmuştur. Mevcut çalışmada dondurulmuş-çözdürülmüş sperma kullanımına bağlı şekillenen düşük gebelik oranlarının iyileştirilmesi bağlamında dondurma-çözdürme hasarlarının azaltılması amacıyla intraepididimal PRP uygulanmış koçlardan alınan ve ayrıca *in vitro* PRP ilave edilmiş dondurulmuş-çözdürülmüş spermalarla suni tohumlama yapılmıştır. İntraepididimal PRP uygulanan hayvanlardan alınan spermaların dondurulup çözdürülmesinden sonra kontrolüne göre düşük oksidatif stres düzeyi ile yüksek kolesterol, CatSper ve Trp iyon kanal ekspresyonu, HSD3 β , StAR ve PDGF düzeyleri, plazma ve akrozom membran bütünlüğü, total ve progressif motilite, VCL, VSL ve VAP değerlerine sahip olduğu bu çalışmada kanıtlanmıştır. Öte yandan %5 PRP'li dondurulmuş-çözdürülmüş spermanın da intraepididimal uygulamada olduğu gibi morfofonksiyonel ve moleküler özellikler bakımından kontrolüne göre daha iyi sonuçlara sahip olduğu mevcut çalışmada açık bir şekilde ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada üreme mevsimi dışında progestagen emdirilmiş vajinal süngerlerle senkronize edilen koyunların intraservikal yöntem ve intraepididimal PRP'li (*in vivo* PRP grubu) ve %5 PRP ilaveli (*in vitro* PRP grubu) dondurulmuş-çözdürülmüş spermalar kullanılarak tohumlanmalarından elde edilen gebelik oranları ve diğer reproduktif parametrelerin (gebelik süresi, kuzulama oranı, çoklu kuzulama oranı, dişi kuzu oranı, erkek kuzu oranı ve kuzu doğum ağırlığı) Kontrol grubuna göre farklı olmadığı gözlemlendi. Her ne kadar *in vitro* PRP grubundan elde edilen gebelik oranı (%28) ve çoklu doğum oranı (%14.29) kontrol ve *in vivo* PRP grubundan daha yüksek olmasına rağmen istatistiki olarak anlamsızdı. Koyunlarda östrus senkronizasyonu sonrası sabit zamanlı tohumlamada başarı, yalnızca sperm kalitesiyle değil, aynı zamanda endometriumun reseptivitesi ve embriyo-maternal etkileşimlerle de

ilişkilidir (14). Bu nedenle PRP'nin sperma kalitesine sağladığı katkı, üreme sezonu dışında uterusun biyolojik ortamı tarafından kısmen sınırlandırılmış olabilir. Bu çalışmadaki gibi intraepididimal ve in vitro PRP uygulanmış dondurulmuş-çözdürülmüş sperma kullanımı ile intraservikal tohumlamaların yapıldığı koyunlara ait çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak koyunlarda yapılan suni tohumlama çalışmalarında dondurulmuş spermalarla yapılan tohumlamaların taze spermaya göre gebelik açısından oldukça düşük kaldığı görülmektedir (15). Bu durumun temel nedenlerinden biri akrozomal bütünlüğün bozulmasıyla birlikte zona pellucida'ya bağlanma ve penetrasyon kapasitesinin azalmasıdır. Dolayısıyla laboratuvar ortamında elde edilen sonuçların, doğrudan döl verimi parametreleriyle ilişkili olduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte üreme sezonunda vajinal süngerle senkronize edilen keçilerde yapılan bir çalışmada, %5 ve %10 konsantrasyonlarında in vitro PRP içeren dondurulmuş-çözdürülmüş spermalar ile intraservikal tohumlamalardan %60-80 arasında gebelik ve doğum oranı elde edildiği, bu oranların kontrol grubunda elde edilen gebelik ve doğum oranlarına göre istatistiki olarak yüksek olduğu bildirilmiştir (16). Tüm bunlara ek olarak dondurulmuş spermalar ile yapılan tohumlamalarda spermatozoonların uterus ortamında geçirdiği değişikliklerde dikkate alınmalıdır. Gebelik oranlarını etkileyen yalnızca sperm hücresinin yapısal bütünlüğü değil, aynı zamanda uterin immün yanıt, seminal plazma proteinlerinin rolü ve sperm-epitelyal hücre etkileşimleridir. Özellikle koyunlarda spermatozoonların uterin lümende geçirdiği transit süresince, plazma membranı stabilitesini koruyabilmesi fertilizasyon başarısı açısından kritik görülmektedir (17). Boğa spermalarının fertilizasyon kapasitesinin artırılmasına yönelik bir çalışmada %5 PRP'li dondurulmuş-çözdürülmüş sperma kullanımı ile gerçekleştirilen in vitro fertilizasyonda, döllenmiş oosit (PRP; %79.8, kontrol; %68.2), bölünmüş (PRP; %65.1, kontrol; %48.8) ve blastosist evresi (PRP; %53.7, kontrol; %36.6) embriyo oranlarının kontrole göre

önemli ölçüde daha yüksek, polispermimin (PRP; %2.1, kontrol; %7.9) ise anlamlı derecede düşük olduğu saptanmıştır (18). Bilindiği üzere, iyi bir sperm motilitesi, plazma ve akrozom membran bütünlüğü, DNA bütünlüğü, mitokondriyal membran potansiyeli gibi sperma özellikleri başarılı bir fertilizasyon için spermada aranacak özelliklerdendir. PRP'li sperma kullanımından elde edilen daha iyi embriyo gelişimi (18, 19) ve gebelik oranlarının (16), kriyoprezervasyonun spermatozoada meydana getirdiği hasarların PRP tarafından azaltılması ya da önlenmesi sayesinde olduğu iddia edilmiştir. PRP'nin kriyoprezervasyon hasarlarını önleme mekanizmasının altında yatan neden, PRP'nin büyüme faktörleri, antioksidan enzimler, iz elementler (20, 21) ve biyoaktif lipitler (22) yönünden zengin olması olabilir. Çünkü büyüme faktörleri (23-27), antioksidan enzimler (28-31), iz elementler (32), kolesterol (33, 34) ve yağ asitlerinin (35) kriyoprezervasyona karşı spermatozoayı koruduğu iyi bilinmektedir. Öte yandan in vitro embriyo transferi ile fertilizasyon başarısızlığı yaşayan kadınlarda intrauterin PRP uygulamasının gebe kalma üzerine önemli etkilerinin olduğu ileri sürülmüştür (36, 37). Bu çalışmada in vitro PRP grubundan elde edilen sonuçlar kontrole göre sayısal olarak yüksek bulursa da Salama ve ark. (16)'nin keçilerde, El-Sherbiny ve ark. (18)'nin sığırlarda elde ettikleri istatistiki olarak önemli bulgularla uyuşmamaktadır. Bu durumun temel nedeni, kullanılan hayvan materyallerinin farklı olması, bu çalışmada tohumlamaların üreme sezonu dışında ve östrus kontrolsüz sabit zamanlı olarak yapılmasıyla ilişkili olabilir. Dolayısıyla intraepididimal PRP içeren dondurulmuş-çözdürülmüş spermalarla üreme sezonu dışında intraservikal tohumlamanın koyunlarda gebelik ve çoklu doğum, kuzulama, cinsiyet oranı gibi diğer reproduktif parametreler üzerine herhangi bir etkisi olmasa da, in vitro PRP grubundaki gebelik oranları ve çoklu doğum oranlarında gözlenen hafif bir artışa istinaden %5 in vitro PRP içeren dondurulmuş-çözdürülmüş sperma ile intraservikal tohumlama tavsiye edilmektedir.

Kaynaklar

1. Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 2000; 60-61: 481-492.
2. Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1987; 81(2): 459-469.
3. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. *Am J Sports Med* 2009; 37(11): 2259-2272.
4. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001; 10(4): 225-228.
5. Türk G, Güngör İH, Arkalı G, et al. In vitro effect of platelet-rich plasma (PRP) on morpho-functional characteristics, oxidative stress, apoptosis and CatSper-1 ion channel in short-term stored (5°C) ram semen. *Small Rumin Res* 2025; 244: 107449.
6. Gibbons AE, Fernandez J, Bruno-Galarraga MM, Spinelli MV, Cueto MI. Technical recommendations for artificial insemination in sheep. *Anim Reprod* 2019; 16(4): 803-809.
7. Gordon I. *Controlled Reproduction in Sheep and Goats*. Volum 2, London, UK: CAB International, 1997.
8. Salamon S, Maxwell WMC. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim Reprod Sci* 1995; 37: 185-249.
9. Lightfoot RJ, Salamon S. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I. Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. *J Reprod Fertil* 1970; 22(3): 385-398.
10. Yamaki K, Morisawa M, Ribadulla A, Kojima J. Sheep semen characteristics and artificial insemination by laparoscopy. *Tohoku J Agric Res* 2003; 54(1-2): 17-26.

11. Olesen I. Effects of cervical insemination with frozen semen on fertility and litter size of Norwegian sheep. *Livest Prod Sci* 1993; 37(1-2): 169-184.
12. Donovan A, Hanrahan JP, Kummer E, Duffy P, Boland MP. Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Anim Reprod Sci* 2004; 84(3-4): 359-368.
13. King ME, Mc Kelvey WAC, Dingwall WS, et al. Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen-thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology* 2004; 62: 1236-1244.
14. Spencer TE, Bazer FW. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. *J. Anim. Sci* 2004;82(suppl_13): E4-E13.
15. Anel L, Alvarez M, Martinez-Pastor F, et al. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reprod Domest Anim*, 2006;41: 30-42.
16. Salama MS, Sheabeldin AM, Ashour MA, et al. Effect of the addition of platelet-rich plasma to Boer buck semen on sperm quality and antioxidant activity before and after cryopreservation and in vivo fertility. *Small Rumin Res* 2024; 230: 107167.
17. Rodriguez-Martinez H. Role of the oviduct in sperm capacitation. *Theriogenology*, 2007;68: S138-S146.
18. El-Sherbiny HR, Abdelnaby EA, Samir H, Fathi M. Addition of autologous platelet rich plasma to semen extender enhances cryotolerance and fertilizing capacity of buffalo bull spermatozoa. *Theriogenology* 2022; 194: 104-109.
19. Ulhe SM, Choudhary N, Shrivastava J, et al. Overcoming male factor infertility: A journey through assisted reproductive technology with platelet-rich plasma therapy. *Cureus* 2024; 16(3): e55378.
20. Marx RE. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(4): 489-496.
21. Irmak G, Demirtaş TT, Gümüşderelioğlu M. Sustained release of growth factors from photoactivated platelet rich plasma (PRP). *Eur J Pharm Biopharm* 2020; 148: 67-76.
22. Hoferlin LA, Huynh QK, Mietla JA, S et al. The lipid portion of activated platelet-rich plasma significantly contributes to its wound healing properties. *Adv Wound Care* 2015; 4: 100-109.
23. Saeednia S, Bahadoran H, Amidi F, et al. Nerve growth factor in human semen: Effect of nerve growth factor on the normozoospermic men during cryopreservation process. *IJBMS* 2015; 18(3): 292-299.
24. Saeednia S, Shabani Nashtaei M, Bahadoran H, Aleyasin A, Amidi F. Effect of nerve growth factor on sperm quality in asthenozoospermic men during cryopreservation. *Reprod Biol Endocrinol* 2016; 14: 29.
25. Selvaraju S, Krishnan BB, Archana SS, Ravindra JP. IGF1 stabilizes sperm membrane proteins to reduce cryoinjury and maintain post-thaw sperm motility in buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa. *Cryobiology* 2016; 73(1): 55-62.
26. Najafi A, Amidi F, Sedighi Gilani MA, et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor on sperm function, oxidative stress and membrane integrity in human. *Andrologia* 2017; 49(2): e12601.
27. Alkhawagah AR, Ricci A, Banchi P, et al. Effect of epidermal growth factor (EGF) on cryopreserved piedmontese bull semen characteristics. *Animals (Basel)* 2022; 12(22): 3179.
28. Maia MS. Sperm viability and reactive oxygen species (ROS) generation in ram semen cryopreserved in extenders with sodium lauryl sulfate (OEP), Trolox-c and catalase. Thesis. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, UNESP, Botucatu. 2006.
29. Maia MS, Bicudo SD, Azevedo HC, et al. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. *Small Rumin Res* 2009; 85: 85-90.
30. Forouzanfar M, Ershad SF, Hosseini SM, et al. Can permeable super oxide dismutase mimetic agents improve the quality of frozen-thawed ram semen. *Cryobiology* 2013; 66: 126-130.
31. Güngör S, Ata A, İnanç ME. Effects of trehalose and catalase on the viability and kinetic parameters of cryopreserved ram sperm. *Acta Sci Vet* 2018; 46: 1577.
32. Abedin SN, Baruah A, Baruah KK, et al. Zinc oxide and selenium nanoparticles can improve semen quality and heat shock protein expression in cryopreserved goat (*Capra hircus*) spermatozoa. *J Trace Elem Med Biol* 2023; 80: 127296.
33. Moce E, Purdy PH, Graham JK. Treating ram sperm with cholesterol-loaded cyclodextrins improves cryosurvival. *Anim Reprod Sci* 2010; 118(2-4): 236-247.
34. İnanç ME, Tekin K, Olgac KT, et al. Effect of cholesterol loaded cyclodextrin on semen cryopreservation of Aksaray Malakli shepherd dogs of different ages. *Anim Reprod Sci* 2018; 193: 191-200.
35. Diaz R, Quinones J, Short S, et al. Effect of exogenous lipids on cryotolerance of Atlantic salmon (*Salmo salar*) spermatozoa. *Cryobiology* 2021; 98: 25-32.
36. Molina A, Sanchez J, Sanchez W, Vielma V. Platelet-rich plasma as an adjuvant in the endometrial preparation of patients with refractory endometrium. *JBRA Assist Reprod* 2018; 22(1): 42-48.
37. Zamaniyan M, Peyvandi S, Heidaryan Gorji H, et al. Effect of platelet-rich plasma on pregnancy outcomes in infertile women with recurrent implantation failure: A randomized controlled trial. *Gynecol Endocrinol* 2021; 37(2): 141-145.