

T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM JİNEKOLOJİ VE SUNİ TOHUMLAMA (VET) ANABİLİM DALI



**KEDİLERDE ANTİMÜLLERİAN HORMONUN  
FOLİKÜLOGENEZİSTEKİ ROLÜ VE OVARYOHİSTEREKTOMİ  
SONRASI SEYRİ**

DOKTORA TEZİ

Ahmet GÖZER

**Danışman**

Prof. Dr. Gökhan DOĞRUER

**HATAY-2022**

T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM JİNEKOLOJİ VE SUNİ TOHUMLAMA (VET) ANABİLİM DALI

**KEDİLERDE ANTİMÜLLERİAN HORMONUN  
FOLİKÜLOGENEZİSTEKİ ROLÜ VE OVARYOHİSTEREKTOMİ  
SONRASI SEYRİ**

DOKTORA TEZİ

Ahmet GÖZER

**Danışman**

Prof. Dr. Gökhan DOĞRUER

Bu tez, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
**20.D.019** nolu proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY-2022**

T.C.  
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DOĞUM JİNEKOLOJİ VE SUNİ TOHURLAMA (VET) ANABİLİM DALI

**KEDİLERDE ANTİMÜLLERİAN HORMONUN  
FOLİKÜLOGENEZİSTEKİ ROLÜ VE OVARYOHİSTEREKTOMİ  
SONRASI SEYRİ**

Doktora Tezi

Ahmet GÖZER

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 20.10.2022 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oyçokluğu/oybirliği ile kabul edilmiştir

**Tez Jürisi:** Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hasan Ceyhun MACUN  
Üye : Prof. Dr. Gökhan DOĞRUER  
Üye : Prof. Dr. Akın YAKAN  
Üye : Prof. Dr. Mustafa Kemal SARIBAY  
Üye : Doç. Dr. İlknur PİR YAĞCI

Bu tez, Enstitümüz Doğum Jinekoloji ve Suni Tohumlama (Vet) Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

.../.../...

Prof.Dr. İbrahim Halil ÇERÇİ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca destek ve tecrübelerini esirgemeyen, yetişmemde büyük emekleri olan başta danışman hocam Prof. Dr. Gökhan DOĞRUER olmak üzere, Prof. Dr. Yaşar ERGÜN'e, Prof. Dr. Mustafa Kemal SARIBAY'a, Prof. Dr. Murat YÜKSEL'e, Dr. Öğretim Üyesi Ayşe Merve KÖSE'ye, Dr. Öğretim Üyesi Ece KOLDAŞ ÜRER'e, tezin klinik aşamasında her zaman yardımcı olan Arş. Gör. Onur Bahan'a,

tezin yapılmasında büyük katkıları olan Doç. Dr. İlknur Pir Yağcı'ya,

hormon ölçümleri ve analizlerinde yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlisi Dr. İshak GÖKÇEK'e,

istatistiksel analizlerdeki yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Ufuk KAYA'ya,

immunohistokimyasal analizlerdeki katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Tuncer KUTLU'ya,

her zaman varlıklarıyla bana destek olan ailem ve arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	VIII
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kedilerde Pubertas	3
2.2. Siklusun Endokrin Düzeni	3
2.3. Kedilerde Seksüel Siklusun Evreleri	5
2.3.1. Proöstrüs	5
2.3.2. Östrüs	6
2.3.3. Diöstrüs	7
2.3.4. İnteröstral Dönem	8
2.3.5. Anöstrüs	8
2.4. Kedilerde Follikülogenezis	8
2.5. Folikül Oluşum Süreci	9
2.6. Primordiyal Folikül Aktivasyonu	10
2.7. Foliküler Hücre Tipleri ve Sınıflandırılması	11
2.7.1. Primordiyal ve Primer Foliküller	11
2.7.2. Sekunder Foliküller	12
2.7.3. Antral Foliküller (Tersiyer Foliküller)	13
2.7.4. Atretik Foliküller	14
2.8. Kedilerde Folikülogenezisi Düzenleyen Lokal İntroovaryan Faktörler	14
2.8.1. Epidermal Büyüme Faktör	15
2.8.2. İnsulin Benzeri Büyüme Faktörleri	16
2.8.3. Transform Yapan Büyüme Faktör- $\beta$	17
2.8.3.1. Büyüme Farklılaştırıcı Faktör-9	17
2.8.3.2. Kemik Morfogenetik Faktör-15	18
2.8.3.3. İnhibin	18
2.8.3.4. Aktivin	19
2.8.3.5. Antimüllerian Hormon	19
2.9. Antimüllerian Hormonun Follikülogenezisteki Rolü	20
2.9.1. İntroovaryan AMH üretimini Düzenleyen Faktörler	21
2.9.1.1. Kemik Morfogenetik Faktörler	21
2.9.1.2. Gonadotropinler ve Östrojenler	21
2.9.1.3. Metabolik ve Yangısal Faktörler	22
2.10. Serum AMH Seviyesini Etkileyen Faktörler	22
2.10.1. Yaş	22

2.10.2. Beslenme	22
2.10.3. Östrüs Siklusun Dönemi	23
2.10.4. Irkın Etkisi	23
2.10.5. Alınan Kan Örneklerinin Etkisi	23
2.10.6. Test Kitinin Etkisi	24
2.10.7. Örneklerin Muhafaza Koşulları	24
2.11. Antimüllerian Hormonun Klinik Kullanım Amaçları	25
2.11.1. Ovarian Remnant Sendrom	25
2.11.2. Granüler Hücre Tümörü	25
2.11.3. Fertilite İçin Bir Belirteç	26
2.11.4. Gonadektomi Durumunun Belirlenmesi	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Gereç	27
3.2. Yöntem	27
3.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması	27
3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması	27
3.2.3. Ovaryohisterektomi Operasyonu	28
3.2.4. Ovaryum Örneklerinin Toplanması	28
3.2.5. Seksüel Siklusun Döneminin Belirlenmesi	28
3.2.5.1. Vaginal Sitolojik Muayeneler	28
3.2.5.2. Ovaryum ve Uterusun Makroskopik Muayeneleri	29
3.2.5.3. Serum Östradiol 17- $\beta$ ve Progesterone Değerleri ile Seksüel Siklusun Döneminin Belirlenmesi	30
3.2.6. Antimüllerian Hormon Ölçümü	30
3.2.7. Östradiol 17- $\beta$ , Progesteron, Folikül Uyaran Hormon ve Luteinizan Hormon ölçümleri	31
3.2.8. Histopatolojik İnceleme	31
3.2.9. İmmunohistokimyasal İnceleme	31
3.2.10. İstatistiksel Analizler	32
4. BULGULAR	33
4.1. Vaginal Sitoloji ve Genital Organların Makroskopik Bulguları	33
4.2. Hormon Bulguları	35
4.2.1. Serum AMH Seviyeleri	35
4.2.2. Serum Östrojen ve Progesteron Değerleri	37
4.2.3. Serum FSH ve LH Seviyeleri	37
4.3. Serum AMH, E2, P4, FSH ve LH Değerleri Arasındaki Korelasyon	38
4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular	39
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇ	52
7. KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	64

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. Primordiyal foliküller .....	12
Şekil 2.2 Sekunder folikül. ....	13
Şekil 2.3. Antral folikül .....	14
Şekil 2.4. Folikülogeneziste gonadotropin bağımlı ve bağımsız gelişme dönemleri.....	15
Şekil 4.1. Foliküler dönemde olan bir kedinin vajinal sitolojisinin mikroskopik görüntüsü.....	33
Şekil 4.2. Luteal dönemde olan bir kedinin vajinal sitolojisinin mikroskopik görüntüsü.....	33
Şekil 4.3. Anöstrüs döneminde olan bir kedinin vajinal sitolojisinin mikroskopik görüntüsü.....	34
Şekil 4.4. Foliküler dönemde olan bir kedinin ovaryumunun makroskopik görüntüsü.....	34
Şekil 4.5. Luteal dönemde olan bir kedinin ovaryumunun makroskopik görüntüsü.....	40
Şekil 4.6. Anöstrüs döneminde olan bir kedinin ovaryumunun makroskopik görüntüsü.....	35
Şekil 4.7. Primordiyal, primer ve sekunder foliküllerdeki AMH üretimi.....	40
Şekil 4.8. Sekunder foliküllerde AMH üretimi.....	41
Şekil 4.9. Kumulus ooforus.....	41
Şekil 4.10. Mural granüloza ve tekal hücrelerde AMH üretimi.....	42
Şekil 4.11. Sekunder atretik foliküllerde AMH pozitifliği.....	42

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

Çizelge 4.1. Örnekleme zamanına göre serum AMH değerlerindeki değişimler.....	35
Çizelge 4.2. Seksüel siklusun dönemine göre AMH, E2 ve P4 değerleri .....	36
Çizelge 4.3. Vücut ağırlığına göre elde edilen AMH değerleri.....	36
Çizelge 4.4. Yaşa göre elde edilen AMH değerleri.....	37
Çizelge 4.5. Örnekleme yapılan dönemlerde serum östrojen ve progesteron değerlerindeki değişimler.....	37
Çizelge 4.6. Örnekleme zamanına göre serum FSH ve LH seviyelerindeki değişimler.....	38
Çizelge 4.7. Operasyon öncesi serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasındaki korelasyon ve önem değerleri.....	38
Çizelge 4.8. Postoperatif 3.günde serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasındaki korelasyon ve önem değerleri.....	39
Çizelge 4.9. Postoperatif 10.günde serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasındaki korelasyon ve önem değerleri.....	39
Çizelge 4.10. Foliküllerde AMH immunpozitiflik skorlaması.....	40

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	:Yüzde
°C	: Santigrad Derece
®	: Tescilli Mmarka
±	: Artı eksi
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
~	: Yaklaşık
≥	: Büyük Eeşittir
ABC	: Avidin Biotin Peroksidaz Kompleks
AMH	: Antimüllerian Hormon
AMHRII	: Antimüllerian Hormon Reseptör II
BMP	: Kemik Morfogenetik Faktör
BMP-R	: Kemik Morfogenetik Faktör Reseptörü
CYP11A1	: Kolesterol Yan Zincir Bölünme Enzimi
dk	:Dakika
E2	: Östradiol 17-β
EGF	: Epidermal Büyüme Faktör
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptör
ELIZA	: Enzim Aracılı İmmun Test
ESR	: Östrojen Reseptör
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktör
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
FSHR	: Folikül Uyarıcı Hormon Reseptörü
GABA	: Gama Aminobütirik Asit
GCT	: Granüler Hücre Tümörü
GDF-9	: Büyüme Farklılaştırıcı Faktör-9
GnRH	: Gonadotropin Salınım Hormonu
H2O2	: Hidrojen Proksit
HE	: Hematoksilen Eozin

IGF	: İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü
IGF1R	: İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü Reseptörü
IGFBP	: İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Proteinler
IHC	: İmmunohistokimya
IM	: İntramuskuler
IU	: İnternasyonel Ünite
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
KL	: Korpus Luteum
L	: Litre
LH	: Luteinizan Hormon
LHR	: Luteinizan Hormon Reseptör
MIS	: Müllerial İnhibiting Substance
mm	: Milimetre
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
ORS	: Ovarian Remnant Sendromu
p.o	: Postoperatif
P4	: Progesteron
PBS	: Fosfat Tampon Solüsyonu
PF	: Primer Folikül
pg	: Pikogram
Pmol	: Pikomol
Prf	: Primordiyal Folikül
SCF	: Kök Hücre Faktörü
SF	: Sekunder Folikül
SMAD	: Small Mothers Against Decapentaplegic
StAR	: Steroidojenik Akut Düzenleyici Protein
TGF- $\beta$	: Transform Yapan Büyüme Faktör- $\beta$
TGF- $\beta$ RII	: Transform Yapan Büyüme Faktör- $\beta$ Reseptörü
TNF-a	: Tümör Nekrozis Faktör- A
USA	: Amerika Birleşik Devletleri

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör  
ZP : Zona Pellusida  
 $\mu$  : Mikro  
 $\mu\text{g}$  : Mikrogram  
 $\mu\text{m}$  : Mikrometre



## ÖZET

### **Kedilerde Antimüllerian Hormonun Folikülogenezisteki Rolü ve Ovaryohistektomi Sonrası Seyri**

Yapılan bu çalışmada kedilerde antimüllerian hormonun folikülogenezisteki rolü ve ovaryohistektomi sonrası seyrinin araştırılması amaçlandı.

Çalışma, yaşları 5-48 ay arasında değişen,  $3.07 \pm 0.5$  kg canlı ağırlığında 20 adet sağlıklı dişi kedide gerçekleştirildi. Kediler, seksüel siklus, yaş ve vücut ağırlıklarına göre sınıflandırıldı. Serum antimüllerian hormon (AMH), E2, P4, FSH ve LH seviyelerinin tespiti için operasyon öncesi (0.gün) ve postoperatif (p.o) 3 ve 10. günlerde kan örnekleri alındı. Ovaryum foliküllerindeki AMH ifadesinin tespiti immunohistokimyasal yöntemle gerçekleştirildi.

Postoperatif AMH seviyelerinde operasyon öncesine göre bir azalma olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). Seksüel siklusun dönemi, yaş ve vücut ağırlığının AMH seviyesini etkilemediği görüldü. Postoperatif 3.günde serum FSH ve LH seviyeleri arasında negatif bir korelasyon tespit edilirken ( $p < 0.01$ ), AMH ve LH seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon gözlemlendi ( $p < 0.05$ ). Serum E2 ile P4 seviyeleri arasındaki ise postoperatif 3.günde pozitif bir korelasyon saptandı ( $p < 0.05$ ). Postoperatif 10.günde serum E2 ve FSH seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Serum AMH ve E2 seviyeleri arasında negatif korelasyon saptandı ( $p < 0.05$ ). Postoperatif 10.günde serum AMH ve FSH seviyeleri arasında ise negatif bir korelasyon tespit edildi ( $p < 0.001$ ).

Serum E2 seviyelerinin p.o 3.günde, 0.güne göre azaldığı, ancak 10.günde operasyon öncesi düzeylerine yaklaştığı gözlemlendi. Serum P4 seviyelerinde ise p.o 3. günden itibaren bir azalma görüldü ( $p < 0.05$ ). Serum E2 değerlerinin östrüs ve diöstrüs döneminde benzer, anöstrüs döneminde ise daha düşük olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). Serum P4 değerlerinin anöstrüs ve östrüs dönemlerinde benzer, diöstrüs döneminde ise daha yüksek olduğu görüldü ( $p < 0.05$ ). Serum FSH değerlerinin p.o 3.günde, 0.güne göre arttığı; LH değerlerinin ise p.o 10.günde, 0.güne göre yükseldiği tespit edildi ( $p < 0.05$ ).

İmunohistokimyasal analizlerde AMH'nin ilk olarak primer foliküllerde üretildiği, antral folikül aşamasında ise en yüksek immunpozitifliğin olduğu tespit edildi. Tekal hücrelerde AMH immunpozitiflik görülmedi, ancak atretik foliküllerde hafif (+1) bir AMH immunpozitiflik görüldü.

**Anahtar Kelimeler:** Kedi, ovaryum, AMH, immunohistokimya

## ABSTRACT

### **Role of the Antimüllerian Hormone in Folliculogenesis and the Course of AMH Following the Ovariohysterectomy in Cats**

The aim of this study was to reveal the role of the antimüllerian hormone in the folliculogenesis and course of the AMH following the ovariohysterectomy in cats.

The study was carried out in 20 healthy female cats aged between 5 and 48 months, weighing  $3.07 \pm 0.5$  kg. Cats were classified according to sexual cycle, age and body weight. For the determination of serum antimüllerian hormone (AMH), E2, P4, FSH and LH levels, blood samples were taken before the operation (day 0) and on the p.o 3th and 10th days postoperatively (p.o). Detection of AMH expression in ovarian follicles was performed by immunohistochemical method.

It was observed that there was a decrease in postoperative AMH levels compared to the preoperative level ( $p < 0.05$ ). It was observed that the period of the sexual cycle, age and body weight did not affect the AMH level. While a negative correlation was detected between serum FSH and LH levels on the 3th postoperative days ( $p < 0.01$ ), a positive correlation was observed between AMH and LH levels ( $p < 0.05$ ). A positive correlation was found between serum E2 and P4 levels on the 3th postoperative days ( $p < 0.05$ ). A positive correlation was detected between serum E2 and FSH levels on 10th postoperative days ( $p < 0.05$ ). A negative correlation was found between serum AMH and E2 levels ( $p < 0.05$ ). A negative correlation was found between serum AMH and FSH levels on the 10th postoperative days ( $p < 0.001$ ).

It was observed that serum E2 levels decreased on p.o 3th days compared to 0th days, but approached preoperative levels on p.o 10th day. A decrease was observed in serum P4 levels starting from the p.o 3th days ( $p < 0.05$ ). It was observed that serum E2 values were similar in oestrus and diestrus periods, but lower in anoestrus periods ( $p < 0.05$ ). Serum P4 values were similar in anoestrus and estrus periods, but higher in diestrus periods ( $p < 0.05$ ). Serum FSH values increased on p.o 3th days compared to 0th days; It was determined that LH values increased at p.o 10th days compared to 0th day ( $p < 0.05$ ).

In immunohistochemical analyzes, it was determined that AMH was first produced in primary follicles, and the highest immunopositivity was observed in the antral follicle stage. AMH immunopositivity was not observed in thecal and interstitial cells, but a mild (+1) AMH immunopositivity was observed in atretic follicles.

**Key Words:** cat, ovary, AMH, immunohistochemistry

# 1. GİRİŞ

Kedilerin dünyada en çok beslenen pet hayvanı olduğu bildirilmektedir. İnsan-kedi ilişkilerine dair ilk bulgular 9500 yıl önce Kıbrıs'ta keşfedilmiştir. Arkeolojik ve antropolojik bulgular, kedilerin daha çok kommensal amaçlarla çiftçiler tarafından tahıl depolarında kayıplara yol açan rodentlere karşı korunmak amacıyla beslenmekte olduğunu göstermektedir (Driscoll ve ark. 2007). Günümüzde evcil hayvanlar ile insanlar arasındaki ilişkiler çok daha karmaşık bir durumdadır. Evcil hayvanların sahiplenilmesinin daha çok hastaların tedavi edilmesi ve motivasyonunun artırılması, depresyon tedavisi ve iletişimi arttırmak amacıyla gerçekleştiği görülmektedir. Ayrıca iş hayatının yoğun ve stresli temposu insan ilişkilerinin değişmesine, gelişen teknoloji ile birlikte insanların daha içe dönük yapı kazanmasına ve dolayısıyla da evcil hayvanlara daha çok bağlanmasına yol açmaktadır (Kaya ve Bektaş 2019). Bu bakımdan kedilerin besleme ve bakımının kolay olması, mizaçlarına bağlı olarak açık alanda gezdirme zorunluluğunun olmaması ve ev ortamında kolaylıkla yaşayabilmesi nedenleriyle insanlar tarafından pet hayvanı olarak daha çok tercih edildiği bildirilmektedir (Demir ve Koç 2014).

*Felidea* ailesi toplamda 37 türden oluşmakta ve evcil kedi hariç bütün kedi türlerinin yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olduğu belirtilmektedir. Soyu tükenmekte olan kedi türleri, hayvanat bahçelerinde ve vahşi yaşam parklarında genetik hatlarının ve biyoçeşitliliğinin korunması için özel olarak yetiştirilmeye çalışılmaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Diğer yandan kadınlarda görülen obeziteye bağlı infertilite, reproduktif yaşlanma, ovaryum hiperstimülasyonu ve yardımcı üreme tekniklerindeki düşük başarı oranlarının kedilerde de görülmesi (Colombo ve ark. 2021), kedi oositleri ile insan oositlerinin benzer özelliklere sahip olması (Comizzoli ve ark. 2008), preovulatör folikül ve kumulus-oosit kompleksindeki moleküler süreçlerin araştırılmasının kedilerde çalışılmasının daha uygun olması nedeniyle evcil kedilerin bu çalışmalarda model olarak kullanılmasının giderek yaygınlaştığı da görülmektedir (Wildt ve ark. 2010, Rojo ve ark. 2018). Bu bakımdan kedilerde üreme fizyolojisi ve yardımcı üreme teknikleri ile ilgili çalışmaların giderek hız kazandığı ifade edilmektedir (Colombo ve ark. 2021).

Antimüllerian hormon, TGF- $\beta$  ailesine mensup bir hormon olup, primordiyal foliküllerin aktivasyonunun engellenmesi, granüloza hücrelerinin folikül uyaran hormon (FSH)'a olan duyarlılığının azaltılması ve foliküler rezervlerin erken tükenmesinin engellenmesinde görev aldığı bildirilmektedir (Durlinger ve ark. 2002, Josso ve Clemente 2003). Klinik olarak kedilerde AMH'nın ovaryum remnant sendromu (ORS), gonadektomi durumunun belirlenmesi, granüler hücre tümörü teşhisi ve yardımcı üreme tekniklerinde yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir (Heaps ve ark. 2017, Flock ve ark. 2022a, Snoeck ve ark. 2017, Pir Yağcı ve ark. 2016a). Antimüllerian hormon seviyesinin gonadotropinler, metabolik ve yangısal birçok faktör ile ilişkili olduğu belirtilmekte (Di Clemente ve ark. 2021), özellikle FSH, androjen ve östrojenlerin AMH seviyesini düzenlediği ifade edilmektedir (Dewailly ve ark. 2016).

Yapılan bu çalışmada kedilerde AMH'nın folikülogenezisteki rolü ve ovaryohistektomi sonrası seyrinin araştırılması amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kedilerde Pubertas

Kedilerde seksüel olgunluğa ulaşma yaşı, ortalama olarak 6-9 aylık yaştır. Bu durum ırk, fotoperiyot, sosyal çevre, genel sağlık, fiziksel kondüsyon ve beslenmeye bağlı olmakla birlikte 5 aydan 12 aylık yaşa kadar uzayabilmektedir (Schmidt 1986, Griffin 2001). Yeterli fiziksel gelişim ve beslenme durumunda dişi kedilerin 2 kg vücut ağırlığına ulaştıktan sonra pubertasa ulaşabileceği ifade edilmektedir (Griffin 2001). Serbest gezen kediler ev kedilerine nazaran daha erken yaşta pubertasa ulaşmaktadır. Kışın ya da sonbaharda doğan kediler bir sonraki üreme mevsimine kadar seksüel olgunluğa ulaşamazlar ve bir yaşından sonra pubertasa ulaşırlar (Schmidt 1986). İran ve Siyam kedileri 18 aylık yaşa gelinceye kadar kızgınlık göstermeyebileceği ve bu sürenin 2-3 yaşa kadar uzayabileceği ifade edilmektedir (Feldman ve Nelson 2004).

### 2.2. Siklusun Endokrin Düzeni

Kediler mevsimsel poliöstrik hayvanlar olup gün ışığının uzamaya başladığı dönemlerde seksüel aktivite gösterirler (Alaçam 2007). Kuzey Yarım Küre’de kedilerde ovaryum aktivitesinin genellikle Ekim ayı civarında azaldığı, Ocak ayında ise fotoperiyot etkisiyle tekrar başladığı belirtilmektedir (Kutzler 2015). Ekvatoryal bölgelerdeki kedilerde ise östrüs siklusu yıl boyunca devam etmektedir (Da Silva ve ark. 2006). Kısa tüylü kediler uzun tüylü kedilere göre daha sık ve yıl boyu seksüel aktivite gösterirler. Kapalı ortamda yaşayan ve 12 saat ışık uyarımı alan kediler ise yine yıl boyunca seksüel aktivite gösterebilirler (Schmidt 1986). Fotoperiyodun günlük 14 saatten 8 saate düşürülmesinin kedilerde folikülogenezisi durdurduğu, tam tersi olarak 8 saatten tekrar 14 saate çıkartılmasının ise 12-26 gün içerisinde ( $15.6 \pm 0.5$ ) seksüel aktiviteyi tekrar başlattığı ifade edilmektedir (Leyva ve ark. 1989a). Evde beslenen kedilerin ovaryum aktivitelerinin, 100 wattlık ampüle eşdeğer ışık kaynaklarının günde 10 saat kullanımı ile uyarılabildiği ve yıl boyu östrüs siklusu görüldüğü belirtilmektedir (Shille ve Sojka 1995). Ayrıca östrüs uyarımının erkek kedi ya da östrüste bulunan başka bir kedi ile de sağlanabileceği vurgulanmaktadır (Michel 1993).

Melatonin kedilerde antigonadotropik etki göstermektedir (Leyva ve ark. 1989b). Gün ışığının artışına bağlı olarak pineal bezden melatonin sekresyonu azalır. Dolaşımdaki melatonin hormon düzeylerinin azalması hipotalamustan gonadotropin salınım hormonu (GnRH) salınımının artmasına, dolayısıyla hipofiz bezinden FSH ve LH sekresyonunu sağlamaktadır (Schäfer-Somi 2017). Hipofiz bezinden salınan FSH, ovaryumda foliküllerin gelişimini başlatmaktadır. Üç ile yedi folikül gelişmeye başlayarak E2 üretmeye başlar. Foliküler aktivite pik yaptığında, plazma östradiol seviyelerinin artış göstererek 20 pg/ml'nin üstüne çıktığı belirtilmektedir (Goodrowe ve ark. 1989). Östradiol-17- $\beta$  seviyelerinin östrüs evresi boyunca 3-4 gün yüksek seviyelerde seyrettiği ilerleyen günlerde ani bir düşüş sergilediği ifade edilmektedir. Yüksek E2 seviyesi östrüsün bulgularının şekillenmesinin ve ovulasyon için gerekli olan gonadotropin pikini sağlamaktadır (Johnston ve ark. 2001).

Kedilerde ovulasyon ‘’provoke ovulasyon’’ olarak tanımlanmaktadır. Ovulasyonun şekillenmesi ve/veya preovulatör LH pikinin oluşması için vajina ve serviksin çiftleşme ile ya da mekanik olarak uyarılması gerekmektedir (Lawler ve ark. 1993). Çiftleşme esnasında penis posteriyor vajinada genişlemeye yol açarak hipotalamustan GnRH salınımını sağlamaktadır. Gonadotropin salınım hormonu salınımı için yeterli miktarda uyarımın olmasının gerektiği belirtilmektedir. Luteinleştirici hormon pikinin çiftleşmeden kısa bir süre sonra gerçekleştiği bildirilmektedir. Birden fazla çiftleşmenin LH pikinin amplitütünde artışa yol açtığı ve LH pikinin daha uzun sürmesini sağladığı ifade edilmektedir (Watson ve Glover 1993). Ayrıca, yeterli miktarda LH salınımının gerçekleşmesinde bireysel farklılıklar da etkilidir. Kedilerde genellikle 3-4 çiftleşmeden sonra ovulasyonun şekillenebildiği belirtilmektedir (Feldman ve Nelson 2004). Kedilerde optimal bir üreme yönetimi için östrüs boyunca 4 saat aralıklarla günde en az 3 defa çiftleşme önerilmektedir. Ovulasyon için gerekli olan LH pikinin sağlanması için östradiol seviyesinde artışa gereksinim duyulmaktadır. Gerekli seviyelere genellikle östrüsün 3-4. günlerinde ulaşılmaktadır (Cain 1998).

Kedilerde üreme sezonunda 8-24 günde bir östrüs görüldüğü, östrüs boyunca bir adet foliküler dalga ve her foliküler dalgada da ortalama 5-6 dominant folikülün geliştiği ifade edilmektedir (Concannon 1983). Östrüsün başında ortalama folikül çaplarının 2-2.3 mm

olduğu ve foliküllerin günde ortalama  $0.2 \pm 0.04$  mm büyüdükleri belirtilmektedir. Kediler ovulasyonun şekillenmediği durumlarda ise ortalama 3.5-4 günde (1-8 gün), foliküller 3-4 mm çapına ulaştıktan sonra interöstral döneme girmektedirler (Concannon 1983, Shille ve ark. 1983, Malandain ve ark. 2011, Vercellini ve ark. 2021).

Her ne kadar kedilerin provoke ovulasyon gösterdiği bilinse de kedilerde %33-56 oranında spontan ovulasyonların şekillenebildiği vurgulanmaktadır. Bireysel kafeslerde barındırılan kedilerde grup halinde barındırılan kedilere göre daha fazla spontan ovulasyon görüldüğü bildirilmektedir (Lawler ve ark. 1993, Binder ve ark. 2019). Ayrıca dokunma ile ilgili faktörlerin de kedilerde ovulasyonu uyarabileceği ifade edilmektedir (Arthur ve ark. 1996). Spontan ovulasyonu sağlayan bir diğer faktör ise ortamda erkek kedilerin varlığıdır. Çiftleşme olmaksızın dişi kedi kolonilerine erkek kedilerin katılmasının spontan ovulasyon oranlarını arttırdığı ifade edilmektedir (Gudermuth ve ark. 1997).

Kedilerde ovulasyon, LH pikinden 48 saat sonra şekillenmektedir (Shille ve ark. 1983). Bütün foliküller aynı anda ovule olmakta, ovulasyondan sonra ise foliküllerde kalan granüloza hücreleri luteinize olarak progesteron sentezlemeye başlamaktadır. Progesteron seviyesi 24 saat içinde yükselmeye başlayarak ovulasyon sonrası 15-25.günlerde 60-90 ng/ml seviyelerine kadar yükselmektedir. Gebe kalan kedilerde gebeliğin son iki gününe kadar progesteron seviyesi yüksek seyretmektedir. Gebeliğin sonuna doğru 2 ng/ml seviyesine, doğumdan hemen sonra ise 1 ng/ml'nin de altına düşmektedir (Verstegen ve ark. 1993). Gebeliğin devamlılığı için minimum 1 ng/ml progesteron seviyesi gereklidir (Verstegen 1998).

### **2.3. Kedilerde Seksüel Siklusun Evreleri**

Kedilerde seksüel siklusun evreleri; proöstrüs, östrüs, diöstrüs ve anöstrüs olmak üzere 4 ana başlıkta incelenmektedir (Feldman ve Nelson 2004, Bristol-Gould ve Woodruff 2006).

#### **2.3.1. Proöstrüs**

Proöstrüs kedilerde yaklaşık olarak 0.5-2 gün sürmektedir. Bu dönemde dişi kedide motor aktivite artmaktadır. Sıklıkla başını ve gövdesini bulunduğu ortamdaki nesnelere

sürtme ve yuvarlanma hareketleri göstermektedirler. Dişiler bu dönemde erkekler için çekici iken çiftleşmeye izin vermemektedir (Michael 1961, Shille ve ark. 1979, Wiebe ve Howard 2009).

Bu dönemde, GnRH hipofiz bezinden FSH ve LH salınımını artırır. Folikül uyaran hormon seviyesindeki bu artış folikülerin folikül havuzundan çekilmesini başlatır ve foliküler dalganın sürekli gelişimini artırır. Erken antral foliküller büyümeye ve gelişmeye başlayınca, LH tekal hücrelerden androjen salınımını sağlar. Androjen seviyesindeki artış, granüloza hücre proliferasyonunu artırarak E2'nin kan seviyesinde yükselmesine neden olur. Östradiol-17 $\beta$  seviyesindeki bu artışla östrüsün davranışsal belirtileri ortaya çıkar ve vaginal kornifikasyon başlar (Shille ve ark. 1979, Feldman ve Nelson 1996).

Östrüs yaklaşık 3-7 folikül dominant olmakta, geriye kalan foliküller ise atreziye olmaktadır (Wildt ve ark. 1981). İki östrüs arasındaki hormon seviyeleri diş kedilerin çiftleşip çiftleşmemelerine göre değişmektedir (Schmidt 1986). Östrüs dönemindeki çiftleşmiş ya da çiftleşmemiş kedilerde östrüs başlangıcında kan E2 konsantrasyonu değişken olmakla birlikte genellikle 20 pg/ml'den yüksektir (Wildt ve ark. 1981). Östradiol 17- $\beta$  seviyesi ovulasyonun gerçekleştiği kedilerde genellikle yüksek kalmaktadır ve ovulasyondan sonra bazal seviyeye düşmektedir. Ovulasyonun şekillenmediği kedilerde ise östrüsün son 24-48. saatlerinde bazal seviyeye inmektedir (Schmidt 1986).

### 2.3.2. Östrüs

Östrüs dönemi kedilerde ortalama 1 hafta (2-19 gün) sürmektedir ve erkeğin kabul edildiği dönem olarak belirtilmektedir (Root ve ark. 1995, Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Siyam kedileri gibi bazı kedilerde ise östrüs süresi 7 günden daha fazla sürebilmektedir. Bu durumun yüksek östradiol düzeylerine bağlı olarak foliküler dalgaların kesişmesi nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir (Feldman ve Nelson 2004). Bu dönemde östradiol seviyesi 70 pg/ml'nin üstüne çıkarak pik yapmaktadır (Johnston ve ark. 2001).

Östrüsteki kedilerin proöstrüs döneminde erkek kedilere karşı göstermiş oldukları agresif davranışlar ortadan kalkar, diş refleksi olarak lordosis pozisyonu alır, kuyruk laterale yatırılır, perineum açığa çıkarılır ve çiftleşme gerçekleşir. Çiftleşme yaklaşık olarak 5-15 saniye sürmektedir. Çiftleşme bittikten sonra diş kedi bağırarak çiftleşmeye son verir.

Çiftleşmeden sonra yuvarlanma hareketi gerçekleştirir. Yuvarlanma yavaş yavaş azalarak, dişi kedi 20 dakika sonra tekrar çiftleşmeye hazır olmaktadır. Çiftleşmeler 24-48 saat süresince artan aralıklarla tekrar eder (Schmidt 1986). Östrüs döneminde foliküler aktivite, vaginal kornifikasyon ve östradiol seviyesi ile ilişkilidir. Bu dönemde foliküller 2.5-3.5 mm çapındadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006).

### 2.3.3. Diöstrüs

Diöstrüs dönemi ovulasyon şekillendikten sonra korpus luteum (KL)'un oluştuğu ve progesteron sentezinin gerçekleştiği dönemdir. Korpus luteum, ovulasyondan sonra rezidüel granüloza ve teka hücrelerinden oluşan geçici bir reproduktif organdır (Niswender ve ark. 2000). Preovulator LH piki, granüloza ve teka hücrelerinin luteinizasyonunu sağlar. Luteinizasyon sürecinde teka ve granüloza hücreleri fizyolojik ve morfolojik olarak birbirinden farklı iki ayrı hücreye dönüşmektedir. Granüloza hücreleri büyük steroidojenik luteal hücrelere dönüşürken; teka hücreleri ise küçük steroidojenik luteal hücrelere dönüşür (Murphy 2000). Korpus luteumun ana görevi gebeliğin oluşturulması ve sürdürülmesi için temel olan progesteron sentezini sağlamasıdır. Korpus luteumun yaşam süresi türler arasında ve içinde çiftleşme ya da gebelik olup olmamasına göre değişmektedir (Bowen-Shauver ve Telleria 2000).

Bu dönemde progesteron seviyesi 1.5 ng/ml den 20 ng/ml'ye kadar geniş bir aralıkta olabilmektedir. Diöstrüs dönemi gebe kedilerde yaklaşık 2 ay, yalancı gebe kedilerde ise yaklaşık 40 gün sürmektedir. Gebelik ya da yalancı gebelik sonlandıktan sonra luteolizis gerçekleşmekte ve serum progesteron seviyesi 1.5 ng/ml'nin altına inmektedir (Johnston ve ark. 2001). Östrüs, luteal faz bittikten 10 gün sonra tekrar başlayabilir. Ancak, emziren kedilerde süttten kesimden sonraki 8 hafta boyunca laktasyonel bir anöstrüs görülebilmektedir. Eğer doğum üreme mevsiminde şekillenmişse süttten kesimden 4 hafta sonra kediler östrüs gösterebilmektedir. Ancak, emziren kediler de östrüs gösterebilmektedir. Genellikle gebelikten sonra şekillenen östrüsler kısadır ve fertilitte daha düşüktür. Gebelik süresince kediler östrüs gösterip çiftleşebilir. Ancak LH ve E2 seviyeleri yüksek değildir (Tsutsui ve Stabenfeldt 1993, Griffin 2001).

Köpeklerde görülen preovulatorik luteinizasyon olgusu kedilerde görülmemektedir. Ovulasyonun şekillendiği durumlarda fertilize olan ovum, ovulasyondan sonraki 4-

5.günlerde uterusu inmektedir (Swanson ve ark. 1994). Ovulasyonun şekillendiği ancak fertilizasyonun gerçekleşmediği durumlarda ise yalancı gebelik şekillenmekte, bu durum ise 40 gün sürmektedir. Kedilerde yalancı gebelik olgularında maternal davranışlar ve laktasyon görülmemektedir (Feldman ve Nellson 2004). Gebelik ve yalancı gebelik durumunda görülen yüksek progesteron seviyesi ile GnRH sekresyonu baskılanmaktadır. Bu durumda kediler luteal yapı ortadan kalkana kadar östrüs göstermezler. Yalancı gebelik durumunda progesteron seviyesi 25-30.günlerde düşmeye başlar, 40-50.günlerde ise 1-2 ng/ml'nin altına iner. Luteotropik faktörler (prolaktin, relaksin) olmadığı zaman kedilerde KL regrese olmaya başlar (Verstegen ve ark. 1993, Verstegen 1998).

#### **2.3.4. İnteröstral Dönem**

İnteröstral dönem, seksüel aktivitenin ve ovulasyonun şekillenmediği dönem olarak ifade edilmektedir. Bu dönemde plazma E2 seviyesi 15 pg/ml'nin altında olup, ortalama 7 gün (2-19 gün) sürmektedir (Feldman ve Nellson 2004).

#### **2.3.5. Anöstrüs**

Kedilerin asiklik olduğu dönem anöstrüs olarak tanımlanmaktadır. Bu dönemde hem kan E2 hem de P4 bazal seviyededir (Feldman ve Nellson 2004). Kuzey Yarım Küre'de bu dönem Ekim ile Aralık ayları arasındadır. Ekvator'a doğru gidildikçe mevsimsellik azalmaktadır. Progesteron seviyesi <1 ng/ml, östradiol seviyesi ise 8-12 pg/ml arasında seyretmektedir (Johnston ve ark. 2001).

#### **2.4. Kedilerde Folikülogenezis**

Doğum anında birçok memelide sınırlı sayıda primordiyal folikül mevcuttur. Kedilerde, seksüel olgunluğa ulaşıldıktan sonra dinlenme halinde bulunan primordiyal foliküller dalgalar halinde olgunlaşmaya başlar. Bu süreç follikülogenezis olarak ifade edilir. Dinlenme halinde bulunan çok sayıda primordiyal folikülün aktive olarak gelişmeye ve olgunlaşmaya başlamasına rağmen, bu aktivasyonun ve gelişmenin hangi mekanizmalarla gerçekleştiği halen bilinmemektedir (Jewgenow ve Göritz 1995, Aerts ve Bols 2010). Foliküller, oosit ve onu çevreleyen granüloza hücrelerinden oluşmaktadır. Folikülogenezis boyunca oosit ve granüloza hücrelerinin gelişimiyle beraber foliküler morfoloji değişmektedir (Peters ve McNatty 1980). Folikülogeneziste, oositler foliküler hücrelerle

çevrili bir şekilde çoğalır, farklılaşır ve daha sonra da preovulatorik folikül oluşumu için olgunlaşır. Ovulasyon anında dominant folikül ovule olarak oosit atılır ve fertilizasyon oluşur. Foliküllerin seçilmesi, gelişimi ve ovulasyonun, hipotalamus-hipofiz-ovaryum aksını da içeren bir süreç olduğu ifade edilmektedir (Regan ve ark. 2018).

Folikülogenezis boyunca oosit gelişimi devam etmekte ve granüloza hücreleri farklılaşmaktadır. Kedilerde bu süreç fetal gelişimin 2-3. haftaları arasında başlamaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Fetal yaşamda ya da doğumdan hemen sonra oluşan primordiyal foliküller, rezervleri tükeninceye kadar gelişmeye devam etmektedir. Folikül rezervinden salındığında primordiyal foliküllerin, bir kısmı ovulasyona kadar gelişimini devam ettirirken bir kısmı ise dejenere olmaktadır (Hafez 1993). Kedilerde ovaryumda toplam olarak  $37.853 \pm 6.118$  preantral folikül bulunmakta bu foliküllerin %87'sinin primordiyal, %10.4'ünün primer, %2.3'ünün ise sekonder folikül olduğu bildirilmektedir (Carrijo ve ark. 2010).

## **2.5. Folikül Oluşum Süreci**

Embriyonik gelişim boyunca mitotik olarak aktif primordiyal germ hücreleri vitellus keselerinin epitelyumundan kemotaktik sinyaller sayesinde genital çıkıntıya göç ederler (Aerts ve Bols 2010). Bu göç gonad kordonlarının oluşumunu tetikler ve daha sonraları bu gonad kordonları ovaryumlara dönüşür (Byskov 1975). Mitotik olarak aktif germ hücreleri gonadlara gelip gömüldükten sonra oogonyum olarak adlandırılır (Aerts ve Bols 2010). Oogonyum, granüloza hücre prekürsörleri olan somatik hücrelerce çevrilerek, tam olmayan senkronize mitotik bölünmeler geçirir. Bu mitoz bölünmeler sonucu birçok kist oluşmaktadır. Bu kistler sitoplazmik köprüler aracılığıyla birbirine bağlanır. Bu sitoplazmik köprüler sayesinde mitokondriler ve diğer organların değişimi görülür (Pepling ve Spradling 1998).

Bir dizi senkronize mitozu takiben, oogonyumda ilk mayoz bölünme gerçekleşir. Mayoz bölünme sırasında, stoplazmik köprüler ortadan kalkar ve kistlerin etrafını çeviren somatik hücreler oositlerin etrafını çevirmeye başlayarak kapsül oluşturur ve primer oositler meydana gelir. Primer oositlerin gelişimi profaz I'in diploten aşamasında durur. Kedilerde fetal ovaryum gelişiminde korteks ve medulla ayrımının gebeliğin 40.gününde belirginleşmekte olduğu ifade edilmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Primer oosit

gelişiminin ise fetal gelişimin 40-50.günlerinde başladığı ve doğumdan sonraki 8.günde sonlandığı belirtilmektedir (Peters ve McNatty 1980). Düzleşmiş somatik hücreler (granüloza hücreleri) primer oositin etrafını çevirirler ve ovaryum stromasından bir bazal lamina ile ayrılarak ovaryumun daha dış yüzeylerinde birikirler ve primordiyal folikülleri oluştururlar (Merchant-Larios ve Chimal-Monroy 1989). Evcil kedilerde, cinsiyet gonad kordonlarının dağılması ve primordiyal foliküllerin oluşumunun başlangıcı gebeliğin 32.gününde başlar ve doğumdan sonraki 37.günde sonlanır (McGeady ve ark. 2017). Dişilerde fetal gonadların gebeliğin 34.gününden sonra steroidojenik enzimleri üretebilme kapasitesine sahip olduğu da belirtilmektedir (Braun ve Jewgenow 2017).

## 2.6. Primordiyal Folikül Aktivasyonu

Primordiyal foliküllerin gelişimi üç şekilde neticelenebilir: 1. dinlenme halinde inaktif olarak kalması, 2. aktive olması ve gelişen folikül havuzuna katılıp atreziye olması ya da ovulasyonun şekillenmesi, 3. dinlenme halindeyken ortadan kalkması (Zheng ve ark. 2012). Primordiyal folikül aktivasyonu morfolojik olarak yassı olan pregranüloza hücrelerin küboidal forma dönüşmesi olarak ifade edilmektedir (Eppig 2001, Cooper 2016, Gershon ve Dekel 2020). Primordiyal folikül aktivasyonunda; granüloza hücrelerinde üretilen SCF, pretekal hücrelerden üretilen fibroblast büyüme faktör-7 (FGF-7), primordiyal hücrelerin oositlerinden üretilen FGF-2 gibi gelişme faktörlerinin önemli rol oynadığı bildirilmektedir (Nilsson ve Skinner 2002, Nilsson ve Skinner 2003, Nilsson ve Skinner 2004, Kezele ve ark. 2005).

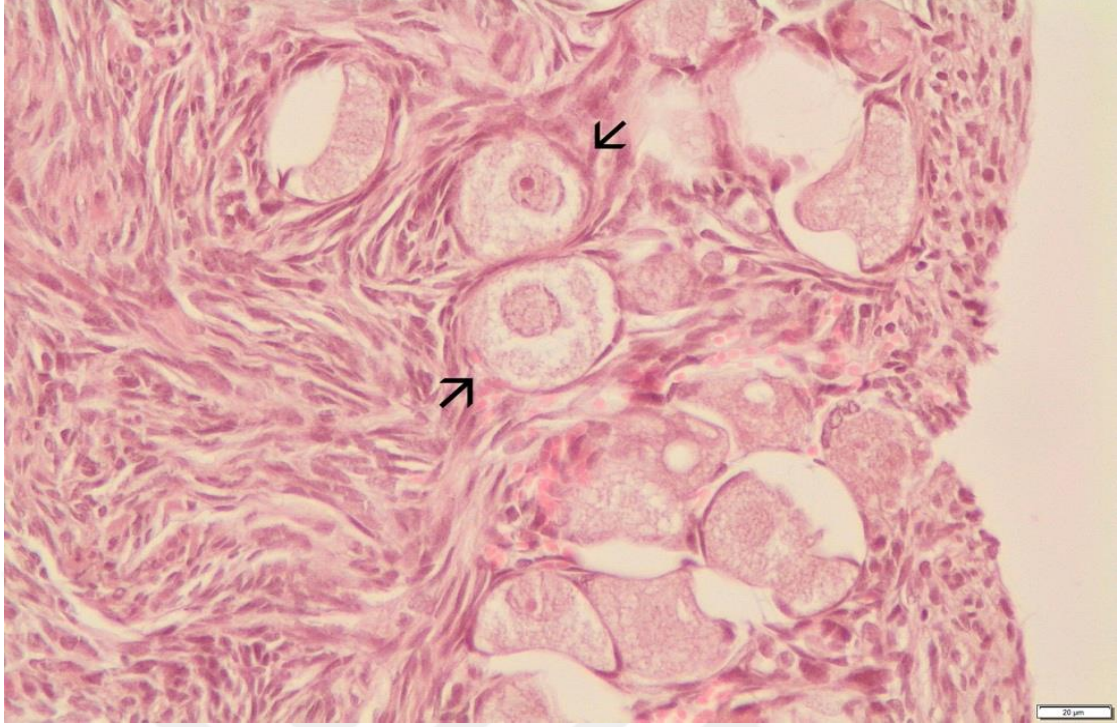
Kedilerde foliküler aktivasyon ile ilgili diğer türlere kıyasla farklı mekanizmaların olduğu öne sürülmektedir. Kedilerde GDF-9 ağırlıklı olarak primer ve antral foliküllerin oositinde bulunmaktadır, GDF-9 reseptörü ise primordiyal ve primer foliküllerde bulunmaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2004). Ancak kedilerde *in vitro* olarak yapılan bir çalışmada (Fujihara ve ark. 2014) GDF-9'un primordiyal folikül aktivasyonunda herhangi bir etkisinin olmadığı vurgulanmaktadır. Epidermal büyüme faktör'ün ise primordiyal folikül aktivasyonunda herhangi bir etki yaratmaksızın folikül canlılığında önemli rol oynadığı bildirilmektedir. Thuwanut ve ark. (2017) ise SCF'nin kedilerde primordiyal foliküllerin aktivasyonunda önemli bir rol oynadığını ifade etmektedirler.

## **2.7. Foliküler Hücre Tipleri ve Sınıflandırılması**

Ovaryum folikülleri birçok farklı hücre tipi içermesine rağmen temelde oosit ve onun etrafını çevreleyen granüloza hücrelerinden oluşmaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Foliküller temel olarak oositlerin gelişmesini sağlamak ve üreme faaliyetleri için gerekli olan hormon ve steroidleri üretmektedir. Foliküller, granüloza hücrelerinin morfolojisi ve boyutu göze alınarak sınıflandırılmaktadır (Aerts ve Bols 2010). Kedilerde folikül tiplerinin genel olarak diğer memeli hayvanlarınkine benzer olduğu ifade edilmektedir. Ancak kedilerin poliovar foliküllere sahip olması ve korteksinde daha fazla primordiyal folikül bulunması kedileri diğer türlerden ayıran bir özelliktir. Kedilerde foliküler, primordiyal, primer, sekonder (preantral), antral ve atretik foliküller olmak üzere 4 tiptedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2006, Jewgenow ve Paris 2006, Saint-Dizier ve ark. 2007).

### **2.7.1. Primordiyal ve Primer Foliküller**

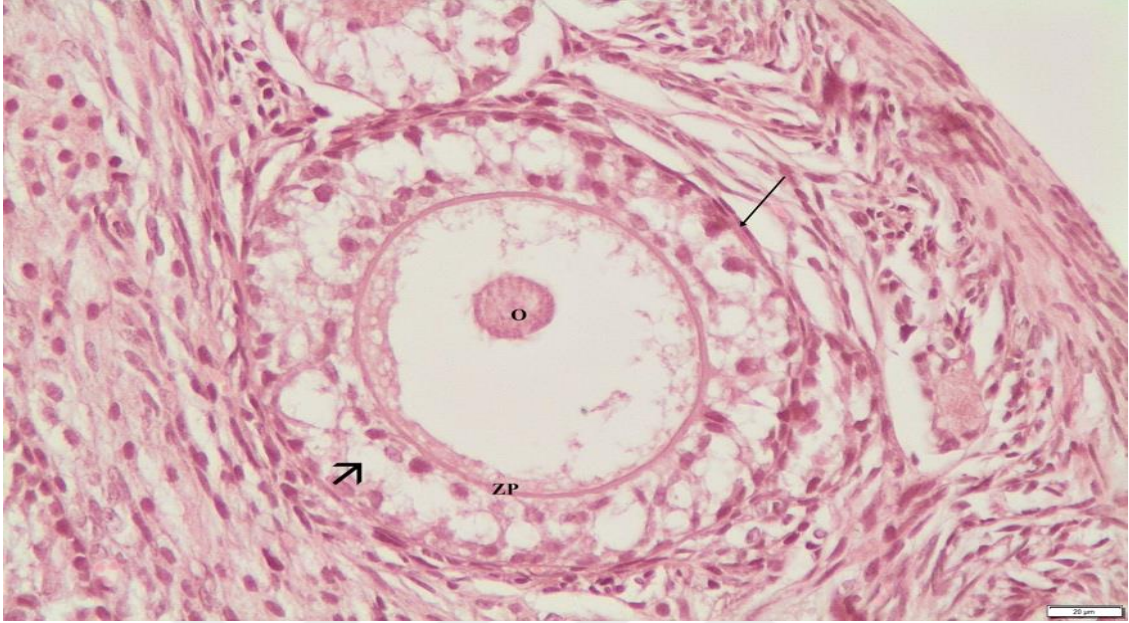
Primordiyal foliküller en erken gelişim aşamasında bulunan foliküllerdir. Primordiyal foliküllerde profaz I aşamasında bulunan bir oosit ve bunun etrafının çeviren tek katlı granüloza hücreleri bulunmaktadır. Kendi içerisinde B Sınıfı (20-30 µm çaplı oositin etrafını çeviren 1-8 düz ya da yassı pre-granüloza hücrelerinden oluşmaktadır); B/C Sınıfı (Oositin etrafında tek tabakalı yassı ya da küboidal granüloza hücreleri mevcuttur) ve C Sınıfı (30-50 µm çaplı oositin etrafında tek katlı küboidal granüloza hücreleri bulunmakta, zona pellusida granüloza hücrelerini ovaryum stromasından ayrılmaktadır) olmak üzere üçe ayrılır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Primordiyal foliküller tunika albugineanın altında yer alan çok zayıf vaskülarize bir bölgede konumlanmaktadır (Gosden ve Telfer 1987). C sınıfı foliküller aynı zamanda primer foliküller olarak da sınıflandırılır ve aktive olmuş primordiyal foliküller olarak ifade edilir (Bristol-Gould ve Woodruff 2006, Gershon ve Dekel 2020). Kedi ovaryumunda var olan preantral foliküllerin % 87'sinin primordiyal folikül olduğu belirtilmektedir (Carrijo ve ark. 2010)



**Şekil 2.1.** Primordiyal Foliküller (ok) 40x, Hematoksilen Eozin (HE)

### 2.7.2. Sekunder Foliküller

Sekunder foliküllerde, 40-75 µm çaplı bir oosit ve iki kat granüloza hücresi bulunmaktadır. Ayrıca tekal hücreler de oluşmaya başlamaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Sekunder foliküllerin çapı 126 µm civarındadır. Bu dönemde ayrıca ZP oluşmaya başlamaktadır ve yaklaşık olarak çapının  $2.7 \pm 0.1$  µm (1.3-4.4 µm) olduğu ifade edilmektedir (Jewgenow ve Fickel 1999, Reynaud ve ark. 2009). Kedilerde, folikül uyaran hormon reseptörü (FSHR) ve luteinizan hormon reseptörü (LHR) bütün foliküllerin oositlerinde mevcutken; FSHR erken antral foliküllerin granüloza hücrelerinde, LHR ise foliküllerin tekal hücrelerinde bulunmaktadır. Kedilerde LHR'nin diğer türlerden farklı olarak granüloza hücrelerinde daha erken dönemde görüldüğü ve intersitisyel dokularlarda daha fazla bulunduğu bildirilmektedir (Saint-Dizier ve ark. 2007, Kehoe ve ark. 2022). İki katlı granüloza hücrelerine sahip sekunder foliküllerde FSHR olmasına rağmen FSH'ya duyarlılığın mevcut olmadığı, FSH'nın etkisini göstermesi için granüloza hücre katının ikiden fazla olması gerektiği belirtilmektedir (Jewgenow ve Pitra 1993, Chansaenroj ve ark. 2019, Kehoe ve ark. 2022). Kedi ovaryumlarındaki toplam preantral foliküllerin %2.3'ünün sekunder foliküllerden oluştuğu ifade edilmektedir (Carrijo ve ark. 2010).

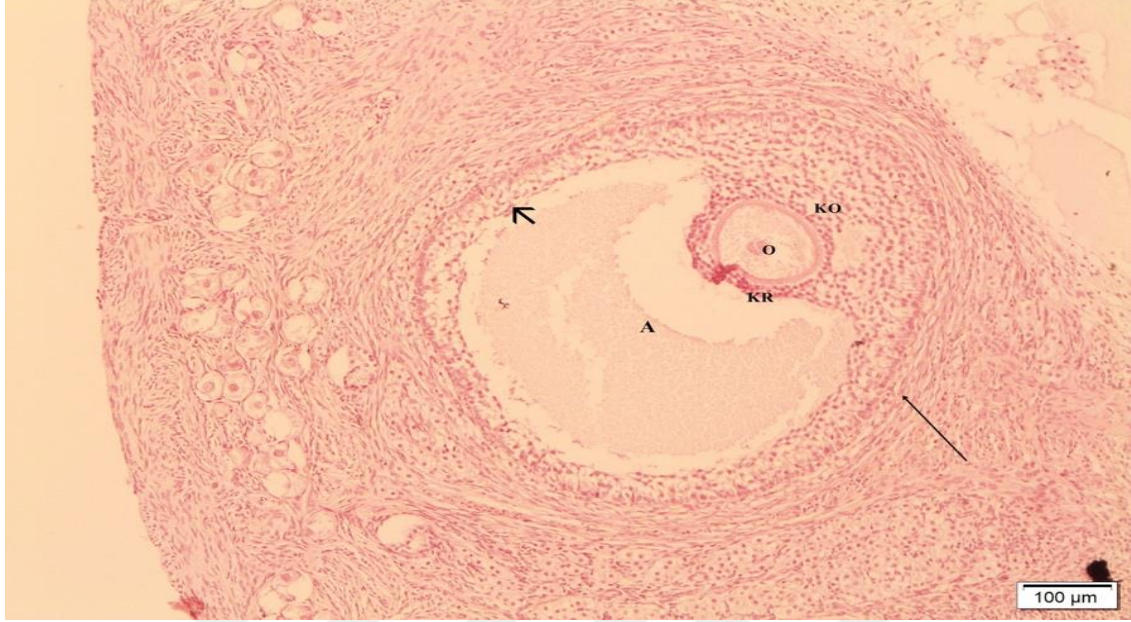


**Şekil 2.2.** Sekunder Folikül. Oosit (O), zona pellusida (ZP), granüloza hücreleri (küçük ok), teka hücreleri (uzun ok): 40x, HE.

### 2.7.3. Antral Foliküller (Tersiyer Foliküller)

Antral foliküller kendi içerisinde küçük antral ve büyük antral folikül olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Küçük antral foliküller, sekonder foliküllere benzemekle birlikte daha büyüktür ve merkezinde foliküler sıvı barındıran bir antrum bulundurur. Küçük antral foliküllerin çapı 300-1000  $\mu\text{m}$  iken, oositlerinin çapları ise 75-90  $\mu\text{m}$  aralığındadır. Antral foliküllerin çeperinde 2-3 kat tekal hücreler bulunmaktadır. Büyük antral foliküller ise 2-3 mm çapında düzenli mural ve granüloza hücrelerinden oluşmaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Oosit ve folikül gelişiminde bifazik bir kalıp mevcuttur. Antrum oluşumundan önce folikül ve oosit büyümesi lineerdir ve pozitif bir korelasyon görülmektedir. Antrum oluşumundan sonraki gelişim dönemlerinde ise folikül, oosite kıyasla daha fazla büyümektedir (Reynaud ve ark. 2009). Folikül uyaran hormon reseptörleri erken antral foliküllerin granüloza hücrelerinde homojen olarak bulunmaktadır. Luteinizan hormon reseptörleri ise tüm foliküllerin teka hücrelerinde heterojen olarak bulunmaktadır. Sekiz yüz  $\mu\text{m}$ 'den büyük KL'lerde ise homojen olarak bulunmaktadır. Luteinizan hormon reseptörleri ayrıca intersitisyel bölgelerde heterojen olarak

dağılmaktadır. Sağlıklı foliküllerde FSHR ve LHR sayısı folikül büyüdükçe artarken, 1600 µm'den büyük atretik foliküllerde ise LHR'lerin azaldığı ifade edilmektedir (Saint-Dizier ve ark. 2007).



**Şekil 2.3.** Antral Folikül. Oosit (O), antrum (A), kumulus ooforus (KO), korona radiata (KR): granüloza hücreleri (küçük ok), tekal hücreler (uzun ok) 4x, HE.

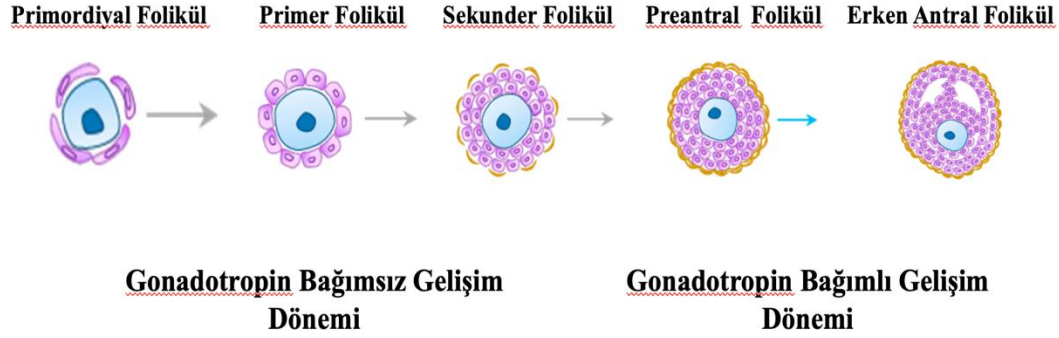
#### 2.7.4. Atretik Foliküller

Atretik foliküller; piknotik çekirdekli, bazal membran bütünlüğü mevcut olmayan, granüloza hücre katmanları incelmış ve bütünlüğü bozulmuş foliküllerdir. Ayrıca, atretik foliküllerde FSHR ve LHR reseptörleri sayılarının önemli ölçüde azaldığı ifade edilmektedir. (Saint-Dizier ve ark. 2007).

#### 2.8. Kedilerde Folikülogenezisi Düzenleyen Lokal İntraovaryan Faktörler

Folikülogenezis; primordiyal foliküllerin aktivasyonunu, erken dönem foliküllerin gelişimini, dominant folikülün seçilimini ve preovulatör foliküllerin olgunlaşmasını içeren bir süreçtir. Hipotalamus, hipofiz ve gonadal aksis tarafından düzenlenen folikülogenezis, lokal olarak otokrin ve parakrin etki gösteren birçok büyüme faktörleri tarafından düzenlenmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2006, Gougeon 2010). Bu aşamalardan ilk ikisi gonadotropinlerden bağımsız olarak şekillenmektedir ve son ikisi ise gonadotropin

bağımlı olup, FSH ve LH bu dönemde foliküler gelişimde aktif bir rol oynamaktadır (Bristol-Gould ve Woodruff 2006, Hsueh ve ark. 2015) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Folikülogeneziste gonadotropin bağımlı ve bağımsız gelişme dönemleri (Lee ve ark. 2021)

Gonadotropinden bağımsız gelişim döneminde EGF, IGF, SCF, TGF- $\beta$ , GDF-9, aktivin reseptörleri, TGF- $\beta$  reseptör, kemik morfogenezik protein reseptör (BMP-RII) ve intraselüler sinyal molekülleri olan small mothers against decapentaplegiclerin (SMAD-2,3 ve 4) çeşitli görevleri mevcuttur (Bristol-Gould ve Woodruff 2006, Polat ve ark. 2009, Fujihara ve ark. 2014, Yıldırım ve ark. 2014, Thuwanut ve ark. 2017).

### 2.8.1. Epidermal Büyüme Faktör

Epidermal büyüme faktör, 53 aminoasitten oluşan, üç adet intramoleküler disülfid bağ içeren tek zincirli bir polipeptittir (Boonstra ve ark. 1995). Epidermal büyüme faktör, etkisini yüksek affiniteli epidermal büyüme faktör reseptörlerine (EGFR) bağlanarak gösterir. Epidermal büyüme faktörü, reseptöre bağlandıktan sonra, EGFR'lerin intraselüler kısmındaki tirozin rezidülerinin fosforilasyonu gerçekleşir, reseptörlerin fosforilasyonundan sonra sitoplazma ve hücre çekirdeğine doğru sinyal üretimi başlar (Citri ve Yarden 2006).

Kedilerde EGF ve EGFR'nin folikülogeneziste önemli rolleri bulunmaktadır. Epidermal Büyüme Faktörü, teka interna, intersitisyel bez hücreleri ve KL'de lokalizedir. Epidermal büyüme faktör reseptörleri ise primer, sekonder ve tersiyer foliküllerin granüloza ve intersitisyel bez hücrelerinde bulunmaktadır (Göritz ve ark. 1996). Merlo ve ark. (2005) evcil kedi oositlerine kattıkları 25 ng/ml EGF'nin zigotun bölünme, morula ve blastosit aşamasına geçme oranını arttırdığını tespit etmişlerdir. Polat ve ark. (2009), kedilerde

oositlerin maturasyonu için kullandıkları medyuma katılan EGF'lerin oosit gelişimine olumlu katkı yaptığını belirlemişlerdir. Fujihara ve ark. (2014) ise EGF'nin foliküllerin hayatta kalmasını önemli ölçüde arttırdığı vurgulamaktadırlar.

### 2.8.2. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri

İnsülin benzeri büyüme faktörleri, üç adet intramoleküler disülfid bağı ile c-peptid içeren polipeptit yapıda moleküllerdir (Hossner ve ark. 1997). İnsülin benzeri büyüme faktörleri sistemi aynı reseptöre bağlanan iki ligand (IGF-1 ve IGF-2), iki adet insulin benzeri büyüme faktörü reseptörü (IGF1R ve IGF2R) ve altı adet insulin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler (IGFBP1-6) ve bağlayıcı proteinlerin ortadan kaldırılmasını sağlayan proteazlardan oluşmaktadır. İnsülin benzeri büyüme faktörlerinin kontrolü benzer IGFBP'ler tarafından sağlanmaktadır. İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler hem IGF'lere bağlanarak etkilerini ortadan kaldırmaktadır, hem de IGF'lerin degradasyonunu engelleyerek yarılanma ömürlerini uzatmaktadır (Kawai ve Rosen 2010, Annunziata ve ark. 2011). İnsülin benzeri büyüme faktörleri sisteminin tüm bu bileşenleri ovaryum folikülleri, KL ve oositte yer almaktadır. İnsülin benzeri büyüme faktör üretimi beslenme durumundan etkilenmektedir (Giudice 2001).

İnsülin benzeri büyüme faktör-1'in primordiyal foliküller üzerine bir etkisi yokken, IGF-1 ve 2'nin *in vivo* ve *in vitro* olarak sekonder foliküllerin gelişmesini sağladığı bildirilmektedirler. Antral foliküllerde, IGF-1 ve IGF-2'nin granüloza hücre proliferasyonunu ve steroidogenezisi uyarırken, apoptosisi inhibe etmektedirler (Sirotkin ve ark. 2003, Silva ve ark. 2006, Webb ve Campbell 2007, Mihm ve Evans 2008). İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler foliküllerde apoptozis belirteçlerdir (Webb ve Campbell 2007). Graff foliküllerinde ise IGF-2 düzeyi artarken, IGFBP-4 düzeyi azalmaktadır (Giudice 2001). Dolayısıyla IGF ve IGFBP'lerin folikül gelişimi ve seçiminde önemli rolleri olduğu görülmektedir (Sirotkin 2011). “

Kitiyanant ve ark. (2003) kedi oositlerinin *in vitro* maturasyonunda yaptıkları bir çalışmada maturasyon medyumuna ekledikleri IGF-I'nin, 1. ve 2. kalite oositlerin maturasyonuna olumlu etki yaptıkları ifade etmektedirler. Yıldırım ve ark. (2014) kedi oositlerinde maturasyon için medyuma kattıkları IGF-I ve EGF'nin maturasyon oranları üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, foliküler dönemde elde edilen oositlerin

sadece IGF-I varlığında %72.8; EGF + IGF-I varlığında ise %78.1 oranında Metafaz II aşamasına ulaştığını, luteal dönemde elde edilen oositlerde ise bu oranın %17.5 ve %16.9 olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca IGF-I'nın tek başına ya da FSH ile beraber granüloza hücrelerinin proliferasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (Perego ve ark. 2021).

### **2.8.3. Transform Yapan Büyüme Faktör- $\beta$**

Foliküler gelişim süreci boyunca oosit-granüloza hücreleri ve granüloza-tekal hücreler arasında karşılıklı bir etkileşim söz konusudur. Bu etkileşimin de en önemli parçalarından birisi TGF- $\beta$  ailesine ait moleküllerdir (Eppig 2001, Knight ve Glister 2006). Transform yapan faktör- $\beta$  ailesi, 3 adet TGF- $\beta$ 1, 2, 3 izoformu, inhibin A ve B (inhibin-A,B ve AB), 20 adet BMP, 9 adet GDF ve AMH'den oluşmaktadır (Knight ve Glister 2006). Tüm bu gelişim faktörlerinin folikülogenezisin tüm aşamalarında, primordiyal folikül aktivasyonu, oosit ve granüloza hücrelerinin gelişimi, folikül gelişimi ve büyümesi, antral foliküllerin seçilimi, ovulasyon ve korpus luteum oluşumunda görev aldığı ifade edilmektedir (Knight ve Glister 2006, Field ve ark. 2014, Patton ve ark. 2021). Transform yapan faktör- $\beta$  ailesine ait olan oosit kökenli GDF-9, BMP-6 ve BMP-15; granüloza hücrelerinden üretilen SCF, tekal ve stromal hücre kökenli BMP-4 ve BMP-7 gibi peptitlerin oosit ve folikül gelişiminde önemli rolleri bulunmaktadır (Knight ve Glister 2006, Field ve ark. 2014).

#### **2.8.3.1. Büyüme Farklılaştırıcı Faktör-9**

Büyüme farklılaştırıcı faktör-9, başlıca oosit tarafından üretilen ve LHR ifadesini baskılayarak etkilerini gösteren bir gelişme faktörüdür (Kaivo-Oja ve ark. 2005, Knight ve Glister 2006). Kedilerde GDF-9 ağırlıklı olarak primer ve antral foliküllerin oositlerinde bulunmakta, BMP-2 ise primordiyal ve primer foliküllerde bulunmaktadır (Bristol ve Woodruff 2004). Fujihara ve ark. (2014) GDF-9'un primordiyal folikül aktivasyonunda herhangi bir etkisi olmadığını vurgularken, Perego ve ark. (2021), kedilerde *in vitro* granüloza hücre kültüründe GDF-9'un progesteron sentezinde artışa yol açtığını bildirmektedirler.

### 2.8.3.2. Kemik Morfogenetik Faktör-15

Kemik morfogenetik faktör-15 ağırlıklı olarak oositlerden üretilen ve folikül gelişiminde önemli rolü olan bir gelişim faktörüdür (McNatty ve ark. 2005, Myers ve Pangans 2010). Kemik morfogenetik faktör-15 en çok oositte daha sonra kumulus hücrelerinde ve daha az oranda ise granüloza hücrelerinde üretilmekte olup, kumulus hücrelerinin apoptozisini engellemektedir (Hussein ve ark. 2005). Kedilerde primordiyal foliküllerden sekonder foliküllere kadar olan gelişim aşamalarında BMP-15 seviyesinin arttığı ifade edilmektedir (Kehoe ve ark. 2021). Ratlarda yapılan bir çalışmada (Otsuka ve ark. 2001) BMP-15'in, steroidojenik akut düzenleyici protein (StAR) ve kolesterol yan zincir bölünme enzimi (CYP11A1) üretimini azaltarak progesteron sentezini azalttığı ifade edilmektedir.

### 2.8.3.3. İnhibin

İnhibin, granüloza hücrelerinden salınan TGF- $\beta$  hormon ailesine ait glikoprotein yapısında bir hormon olup disülfid bağı ile birbirine bağlı, bir adet ortak inhibin-a ile inhibin  $\beta_A$  ya da inhibin  $\beta_B$ 'den herhangi birini içeren iki farklı alt üniteden oluşmaktadır (Knight 1996, Taya ve ark. 1996, Phillips ve Woodruff 2004, Ganguly ve ark. 2010). İnhibin A bir adet ortak inhibin-a ve bir adet inhibin  $\beta_A$ 'dan oluşurken; inhibin B ise ortak bir inhibin-a ve bir adet inhibin  $\beta_B$  ünitesinden meydana gelmektedir. İnhibin etkisini hipofiz bezine direk olarak negatif geri bildirimle serum FSH seviyesinde azalmaya yol açarak göstermektedir (Taya ve ark. 1996, Phillips ve Woodruff 2004).

İnsan ve maymunlarda yapılan çalışmalarda preantral ve küçük antral foliküllerde inhibin  $\beta_B$  alt ünitesinin ağırlıkta olduğu; folikül büyüklüğü arttıkça inhibin-a ve inhibin  $\beta_A$  alt ünitesinin artış gösterdiği belirlenmiştir (Schwall ve ark. 1990, Roberts ve ark. 1993). Benzer şekilde sıçan ve hamsterlerde, inhibin  $\beta_B$  ağırlıklı olarak küçük foliküllerde görülürken, preovulatorik foliküllerde ise inhibin  $\beta_A$  protein miktarının arttığı görülmektedir (Arai ve ark. 2002, Arai ve ark. 2005). Kedilerde inhibin A proteini büyük antral foliküllerin mural granüloza hücrelerinde daha fazla bulunmaktadır. İnhibin  $\beta_A$  ve inhibin  $\beta_B$  ise primordiyal ve primer foliküllerinden salınmaktadır. İnhibin  $\beta_A$  ayrıca sekonder foliküller ve büyük antral foliküllerin teka hücrelerinden de üretilmektedir. Korpus luteumda ise inhibin  $\beta_A$  ve  $\beta_B$  ile ilgili herhangi bir bulgu görülmemiştir (Bristol-Gould ve Woodruff, 2004).

#### 2.8.3.4. Aktivin

Aktivin, granüloza hücrelerinden salınan TGF- $\beta$  hormon ailesine ait glikoprotein yapısında bir hormon olup disülfit bağı ile birbirine bağlanmaktadır. Molekül ağırlığı 25 kDa ağırlığında olup inhibin- $\beta$  alt ünitelerden oluşan dimerlerdir. Aktivin A ( $\beta_A$ - $\beta_A$ ), aktivin B ( $\beta_B$ - $\beta_B$ ) ve aktivin AB ( $\beta_A$ - $\beta_B$ ) olmak üzere üç formu bulunmaktadır (Sarıbay ve Doğruer 2015). Kedilerde aktivin- $\beta_A$  ve aktivin- $\beta_B$  alt üniteleri ve aktivin reseptörlerinin primordiyal ve primer foliküllerin granüloza hücrelerinden üretildiği belirtilmektedir. Dolayısıyla aktivinin daha çok küçük foliküllerin gelişiminde rol oynadığı belirtilmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2004). Wongbandue ve ark. (2013), aktivinin kedilerde preantral foliküllerde proliferasyonu arttırdığını bildirirken, Perego ve ark. (2021) ise aktivinin kedi granüloza hücre kültüründe steroid üretimi ve hücre proliferasyonu üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını ifade etmektedirler.

#### 2.8.3.5. Antimüllerian Hormon

Antimüllerian hormon, TGF- $\beta$  ailesine ait olan glikoprotein yapısında ve 140 kDa ağırlığında bir hormondur (Cate ve ark. 1986, Baarends ve ark. 1995). İlk olarak 1953 yılında Alfred Jost tarafından, tavşan fetuslarında testislerin dışı genital organların gelişimini engelleyen bir molekül sentezlediği ortaya konmuştur (Jost 1953). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise (Jost ve ark. 1973, Di Clemente ve ark. 1994, Baarends ve ark. 1995, Josso ve Clemente 2003), AMH'nin erkeklerde testisteki sertoli hücrelerinde üretilmekte olduğunu ve dışı genital sistemin taslağı olan Müller Kanalı'nın regresyonunda görevli olduğu belirlenmiştir.

Genel olarak AMH de dahil olmak üzere TGF- $\beta$  ailesi, Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki adet serin/treonin kinaz yapılı reseptör kompleksine bağlanarak etkisini gösterirler (Knight ve Glister 2006). Antimüllerian hormon için esas reseptör AMHRII olarak gösterilmiş, bu reseptörün ortadan kaldırıldığı erkeklerde, internal pseudo hermafrodit bireylerin ortaya çıktığı ifade edilmektedir (Mishina ve ark. 1996). Tip 1 reseptör ligand bağlayıcı, Tip 2 reseptör ise intraselüler sinyal oluşturucu reseptör olarak ifade edilmektedir. Antimüllerian hormon, Tip 1 ve Tip 2'den oluşan reseptör kompleksine bağlandıktan sonra intraselüler kinaz bölgesinin fosforilasyonu neticesinde Smad-1, Smad-5 ve Smad-8 (R-Smads) olarak adlandırılan moleküllerin fosforilasyonuna yol açar. Daha sonra, oluşan

kompleks stoplazmada mevcut olan ortak Smad 4 proteini ile birleşip, çekirdeğe geçerek hedef genin ekspresyonuna yol açmaktadır (Knight ve Glister 2006, Umer ve ark. 2019). Antimüllerian hormon'un yarılanma ömrünün 1,5-2,5 gün arasında değiştiği bildirilmektedir (Vigier ve ark. 1983, Claes ve ark. 2013, Murase ve ark. 2015).

## **2.9. Antimüllerian Hormonun Folikülogenezisteki Rolü**

Antimüllerian hormon granüloza hücrelerinden üretilmektedir (Vigier ve ark. 1984, Takahashi ve ark. 1986, Bezaud ve ark. 1987). Antimüllerian hormon'un folikülogenezisteki etkileri primordiyal folikül gelişiminin ve FSH aracılı gelişimin önlenmesidir (Durlinger ve ark. 2002). Böylece AMH, foliküllerin, folikül havuzundan hızlı bir şekilde atılmasını engelleyerek, folikül rezervlerinin erken tükenmesini önlemektedir (Lebbe ve Woodruff 2013). Antimüllerian hormonun SCF ve FGF-7 aracılı primordiyal folikül aktivasyonunu engellediği ifade edilmektedir (Nilsson ve ark. 2007, Hu ve ark. 2014). Ayrıca gonadotropin bağımlı foliküler gelişim döneminde FSH reseptörlerini baskılayarak da etkisini göstermektedir (Durlinger ve ark. 2001, Pellatt ve ark. 2011). Bir diğer etkisi de, aromataz enzim ifadesini ve granüloza hücrelerinde LH reseptörlerini baskılayarak androjenlerin östrojenlere dönüştürülmesi işlemi engellemesidir (Di Clemente ve ark. 1994, Grossman ve ark. 2008, Hagen ve ark. 2014, Sacchi ve ark. 2016).

Folikülogenezis aşamasında primordiyal foliküller AMH üretimi yapamamakta, primordiyal foliküllerin aktivasyonunun AMH üretiminde önemli bir basamak olarak ifade edilmektedir (Baarends ve ark. 1995, Weenen ve ark. 2004). Genel olarak folikül büyüklüğü arttıkça AMH üretiminin azaldığı görülmektedir (Durlinger ve ark. 2002, Weenen ve ark. 2004, Monniaux ve ark. 2011, Monniaux ve ark. 2012, Almeida ve ark. 2018, Alkan Karakaş ve ark. 2019). Sağlıklı ve atretik foliküllerde farklı oranlarda AMH üretimi olduğu bildirilmektedir. Sağlıklı antral foliküllerin, granüloza hücrelerinin teka hücrelerine yakın olan kısımlarında daha fazla AMH üretimi görülürken (Monniaux ve ark. 2012), atretik foliküllerde ise sadece kumulus ooforus hücrelerinde AMH üretiminin olduğu görülmektedir (Rico ve ark. 2011). Tür farklılığı olarak AMH'nın domuz ovaryumunun tekal hücrelerinden de üretildiği ortaya konmuş olmakla birlikte, nasıl bir işlevi olduğu ile ilgili henüz yeterince literatür bilgi mevcut değildir (Almeida ve ark. 2018).

### **2.9.1. İntroavaryan AMH Üretimini Düzenleyen Faktörler**

Antimüllerian hormon üretimi, BMP, gonadotropinler, steroidler, metabolik ve yangısal faktörler tarafından düzenlenmektedir (Di Clemente ve ark. 2021).

#### **2.9.1.1.Kemik Morfogenetik Faktörler**

Oosit kökenli olan BMP-15 keçi granüloza hücrelerinde AMH ifadesini arttırdığı (McNatty ve ark. 2005, Zhao ve ark. 2018), insan granüloza hücrelerinde ise GDF-9 ve BMP-15'in kombine olarak AMH üretimini arttırdığı bildirilmektedir (Convissar ve ark. 2017). Özellikle BMP-4 ve BMP-6'nın ineklerde *in vitro* ortamda AMH mRNA ifadesini arttırdığı ifade edilmektedir (Rico ve ark. 2011). Benzer şekilde koyun granüloza hücrelerinde de BMP-4'ün AMH mRNA ifadesini arttırdığı vurgulanmaktadır. Kedilerde GDF-9, EGF ve SCF'nin foliküler gelişimde etkili rolleri olduğu ifade edilmektedir. Özellikle EGF'nin foliküllerin hayatta kalmasında etkili olduğu, SCF'nin ise primordiyal foliküllerden sekonder foliküllere kadar olan gelişimde etkin rol oynadığı ifade edilmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2004, Fujihara ve ark. 2014, Thuwanut ve ark. 2017). Kehoe ve ark. (2021) kedilerde yaptıkları çalışmalarında primordiyal foliküllerden sekonder folikülerin gelişimine kadar olan dönemde BMP-4 ve BMP-15 mRNA ifadesinin arttığını ifade etmektedirler.

#### **2.9.1.2.Gonadotropinler ve Östrojenler**

Antimüllerian hormon üretimi gonadotropinler, özellikle de FSH tarafından düzenlenmektedir (Di Clemente ve ark. 2021). İnsan ve ineklerde *in vitro* olarak FSH'nin AMH mRNA ifadesinin arttırdığı ifade edilmektedir (Taieb ve ark. 2011, Scheetz ve ark. 2012). Ancak bu durum ortamda androjen varlığına göre değişmektedir. Östrojen prekürsörü olan androjenin kültür ortamına eklenmesi durumunda FSH'nin AMH üzerine olan uyarıcı etkisi de ortadan kalkmaktadır. Dolayısıyla östrojenin AMH hormonu üretimine baskılayıcı etki yaptığı ifade edilmektedir (Monniaux ve ark. 2012, Scheetz ve ark. 2012, Pierre ve ark. 2017). Ancak östrojenin granüloza hücrelerinden AMH üretimine olan etkisi folikülün büyüklüğüne bağlı olarak değişmektedir (Crisosto ve ark. 2009). Bu etkinin muhtemelen östrojen reseptörlerinin [östrojen reseptör-1 (ESR1), östrojen reseptör-2 (ESR2)] folikül boyutuna bağlı olarak farklılık göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Antimüllerian hormon üretiminin, ESR1/ESR2 oranı >1 olduğunda arttığı; ESR1/ ESR2 oranı <1 olduğunda ise azaldığı bildirilmektedir. Geç foliküler dönemde artan ESR2 ve östrojenin AMH üzerine inhibe edici etkisini arttırdığı vurgulanmaktadır (Grynberg ve ark. 2012).

### **2.9.1.3. Metabolik ve Yangısal Faktörler**

Antimüllerian hormon üretiminin metabolik ve yangısal faktörler tarafından etkilendiği ifade edilmektedir (Di Clemente ve ark. 2021). Özellikle insülinin AMH mRNA ifadesini arttırdığı, tümör nekrozis faktör-a (TNF-a) ve vasküler endotelial büyüme faktör (VEGF)'ün ise azalttığı ifade edilmektedir (Glister ve ark. 2014, Fang ve ark. 2016, Liu ve ark. 2019).

### **2.10. Serum AMH Seviyesini Etkileyen Faktörler**

Serum AMH seviyesini etkileyen birçok faktör mevcuttur. Bunlar yaş, beslenme, tür, östrüs siklusunun dönemi, ırkın etkisi, hastalıklar, alınan kan örneğinin etkisi, test kitinin etkisi, örneklerin muhafaza koşulları şeklinde belirtilmektedir (Umer ve ark. 2019, Walter 2020).

#### **2.10.1. Yaş**

Serum AMH seviyesi yaşa bağlı olarak azalmaktadır (Umer ve ark. 2019). Üç aylıktan küçük kedilerde AMH seviyesi en yüksek seviyede iken, 12 aylıktan büyük kedilerde ise düşük seviyelerde olduğu bildirilmektedir (Snoeck ve ark. 2017). Diğer türler için de bu durumun geçerli olduğu belirtilmektedir. Kısıraklarda AMH'nın erken yaşlarda en yüksek seviyede seyrettiği, 17-18 yaşlarında pik yaptığı, daha ileri yaşlarda ise azalmaya başladığı ifade edilmektedir (Ball ve ark. 2019). Benzer şekilde prepubertal kuzularda AMH 3-4,5 aylar arasında dolaşımında en yüksek seviyede iken, 6. aydan sonra ise giderek azalmaya başladığı ifade edilmektedir (Lahoz ve ark. 2014).

### **2.10.2. Beslenme**

Beslenme durumu da AMH seviyesini etkilemektedir (Umer ve ark. 2019). Gebeliğin ilk üç aylık döneminde, yem kısıtlamasına gidilen ineklerden doğan buzağların AMH seviyesinin daha düşük olduğu ifade edilmektedir (Mossa ve ark. 2013). Kadınlarda obezitenin serum AMH seviyesi ile negatif ilişkili olduğu belirtilmektedir (Moy ve ark. 2015).

### **2.10.3. Östrüs Siklusunun Dönemi**

Antimüllerian hormon seviyesi östrüs siklusunun dönemine göre de değişmektedir (Umer ve ark. 2019). Köpeklerde yapılan bir çalışmada (Nagashima ve ark. 2016), anöstrüsün sonlarından itibaren ovulasyondan 6 gün öncesine kadar AMH seviyesi arttığı, ovulasyondan 3 gün önce ise azalmaya başladığı belirlenmiştir. İneklerde ise östrüsü takip eden günlerde görülen FSH pikleri AMH seviyesinde düşüşe yol açmaktadır. İneklerde FSH seviyesindeki artışın, fazla miktarda AMH üreten küçük antral foliküllerde bir azalmaya yol açarak serum AMH seviyesinde bir düşüşe neden olduğu belirtilmektedir (Monniaux ve ark. 2012). Kedilerde diğer türlere benzer şekilde, AMH seviyesinin anöstrüs ve inter-östral aralıkta yüksek olduğu, östrüs döneminde düşüş gösterdiği, proöstrüs ve östrüs dönemleri arasında ise AMH seviyesinde bir fark görülmediği bildirilmektedir (Flock ve ark. 2022b, Gültiken ve ark. 2022).

### **2.10.4. Irkın Etkisi**

Antimüllerian hormon seviyesi ırka bağlı olarak da değişmektedir (Umer ve ark. 2019). Büyük ırk köpeklerde, küçük ırk köpeklere nazaran daha az miktarda AMH seviyesi görüldüğü ifade edilmektedir (Hollinshead ve ark. 2017).

### **2.10.5. Alınan Kan Örneklerinin Etkisi**

Alınan kan örneğinin AMH konsantrasyonu üzerine etkileri olduğu bildirilmektedir (Walter 2020). Plazmadan ölçülen AMH seviyelerinin serumdan elde edilen AMH seviyesinden daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Themmen ve ark. 2016).

### 2.10.6. Test Kitinin Etkisi

Antimüllerian hormonu ölçümü için günümüzde DSL (DSL, Webster, Texas, USA), Immunotech (Marseille, France), AMH Gen II (Beckman Coulter), AMH/MIS ELIZA kit (Ansh Laboratories, Texas, USA), Access AMH kit (Beckman-Coulter Diagnostics, USA) ve Elecsys<sup>®</sup> AMH Immunoassay (Roche Diagnostics International Ltd, Indiana, USA) kitleri kullanılmaktadır (Li ve ark. 2021). Günümüzde en çok kullanılan kit olan AMH Gen II, DSL kit sistemindeki antikolar ile Immunotech kitindeki referansların kullanılmasıyla oluşturulmuştur (Kumar ve ark. 2010). Ancak, AMH Gen II kitinin örneklerin sulandırma ve farklı saklama koşulları altında tutulduğu zaman güvenilir olmayan sonuçlar verdiği bildirilmektedir (Rustamov ve ark. 2012, Dewailly ve ark. 2014). Güvenilir olmayan sonuçların ortaya çıkmasında serum komplement protein C1q'nun kitte bulunan antikora bağlanmasının da etkili olduğu belirtilmektedir. Bu problemin önüne geçmek için pre-mixing aşaması protokole eklenmiş ancak bunun sonucunda ise AMH seviyesinin konvansiyonel protokole göre daha yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir (Han ve ark. 2014). Ölçülen AMH seviyeleri kullanılan testlere göre farklılık göstermektedir. Köpekler için kullanılan ELIZA testleri (Canine-based ELIZA test AnshLabs<sup>®</sup> ve EastBioPharm<sup>®</sup>cMIS/AMH) insanlar için üretilen ELIZA testinden (BeckmanCoulter<sup>®</sup>) daha yüksek AMH seviyesinin ölçülmesine yol açmaktadır (Pir Yağcı ve ark. 2016b).

### 2.10.7. Örneklerin Muhafaza Koşulları

Muhafaza koşullarından özellikle de sıcaklığın AMH seviyeleri üzerine etkili olduğu vurgulanmaktadır. Oda sıcaklığında (20°C) saklanan tam kanda AMH seviyesinin 4 gün sonunda %31 oranında arttığı, buzdolabı sıcaklığında (4°C) saklanan örneklerde ise 4 gün sonunda artışın %11 civarında olduğu ifade edilmektedir. Antimüllerian hormon ölçümü için tam kan örneklerinin 3 saat içerisinde santrifüj edilip elde edilen serumun ayrılması durumunda ise oda sıcaklığında 5 gün, buzdolabı sıcaklığında ise 2 güne kadar AMH seviyesi stabil seyretmektedir (Fleming ve ark. 2013). Rustamov ve ark. (2012) oda sıcaklığında 7 gün tutulan serum örneklerinde AMH seviyesinin %58 oranında artış gösterdiğini belirtmektedirler. Kumar ve ark. (2010), AMH ölçümü amacıyla 2-8°C aralığında saklanan serumlar ile taze serumlar arasındaki farkın %8, -20°C'de saklanan serumlar ile taze serumlar arasındaki farkın ise %1'den az olduğunu bildirilmektedir.

## **2.11. Antimüllerian Hormonun Klinik Kullanım Amaçları**

Antimüllerian hormon, ovarian remnant sendrom ve granüler hücre tümörünün teşhisinde, fertilitenin değerlendirilmesinde bir belirteç olarak ve gonadektomi durumunun belirlenmesi için kullanılabilir (Walter 2020).

### **2.11.1. Ovarian Remnant Sendrom**

Ovarian remnant sendromu daha önce ovaryohistektomi operasyonu geçiren hayvanlarda fonksiyonel bir ovaryum dokusunun varlığı olarak ifade edilmektedir (Miller 1995). Ovarian remnant sendromunda vulvada şişkinlik, serösanguinöz akıntı, erkek hayvanlar tarafından ilgi görme, çiftleşme ve yalancı gebelik gibi çeşitli bulgular görülmektedir (Sontas ve ark. 2007). Ovarian remnant sendromu'nun teşhisinde vaginal sitoloji, hormon seviyelerinin ölçümü ya da deneysel laparotomi gibi yöntemler kullanılmaktadır (Wallace 1991). Ancak, bu teşhis yöntemleri masraflı ve tekrarlı örneklemeler gerektirmektedir (Buijtsels ve ark. 2006). Kedi ve köpeklerde ORS teşhisi amacıyla kullanılan hormonlardan bir tanesinin de AMH olduğu belirtilmektedir. Antimüllerian hormon ölçümü ile siklusun döneminden bağımsız olarak ORS tanısının konulabileceği ifade edilmektedir (Place ve ark. 2011).

### **2.11.2. Granüler Hücre Tümörü**

Ovaryum tümörlerine tüm evcil hayvanlarda rastlanılmaktadır. Dişilerde ovaryumlarda görülen tümörlerin yaklaşık %50'si granüler hücre tümörüdür (MacLachlan 1987, Diez-Bru ve ark. 1998). Granüler hücre tümörleri (GCT) genellikle tek taraflı, metastaz yapabilme özelliğine sahip, büyük, lobuler yapılı, sarı-beyaz bir yüzeye sahiptir. Bazen de kistik, hemorajik ve nekrotik yapıda olabilirler (Nielson ve ark. 1976). Hormonal olarak aktif GCT vakalarında; östrüs siklusunda değişiklikler, östrüsler arası sürenin değişmesi, endometriyumun kistik hiperplazi ve piyometra görülebilmektedir (Johnston ve ark. 2001). Kadınlarda görülen GCT vakalarında serum AMH seviyesinin yüksek olduğu ifade edilmektedir (Rey ve ark. 2000). Benzer sonuçlar ineklerde (El-Sheikh ve ark. 2013) ve kısıraklarda (Ball ve ark. 2012) da bildirilmiştir. Aynı şekilde granüler hücre tümörlü kedi ve köpeklerde serum AMH seviyesinin sağlıklı kedi ve köpeklere kıyasla daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Heaps ve ark. 2017, Walter ve ark. 2018).

### 2.11.3. Fertilite İçin Bir Belirteç

Antimüllerian Hormon seviyesi ile fertilite arasında pozitif bir korelasyonun olduğu bildirilmektedir (Umer ve ark. 2019). Ribeiro ve ark. (2014) alışmalarında AMH seviyesinin yüksek olduğu ineklerde, tohumlama sonrası 35-60. günler arasındaki gebelik kayıplarının daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar (Pinto ve ark. 2018, Sevgi ve ark. 2019, Alkan ve ark. 2020) süperovulasyon uygulaması ncesi AMH değerlerinin elde edilecek embriyo sayısı ile ilişkili olduğunu ifade etmektedirler. Snoeck ve ark. (2017), kedilerde AMH hormon seviyeleri ile oosit in vitro maturasyonu arasındaki ilişkiyi ortaya koydukları çalışmalarında, prepubertal (0-3 ay), peripubertal (3-12 ay) ve pubertal (>12 ay) dönemdeki kedilerde serum AMH değerlerinin sırasıyla 18.71 µg/L, 9.27 µg/L, 4.13 µg/L olduğunu ifade etmektedirler. Yaptıkları çalışmalarında peripubertal ve pubertal dönemdeki kedilerden elde edilen oositlerin maturasyon oranının prepubertal kedilere göre daha yüksek olduğunu vurgulamaktadırlar. Hollinshead ve ark. (2017), büyük ırk köpeklerde küçük ırk köpeklere göre ve bir batında daha fazla sayıda yavru doğuran ırklarda AMH seviyesinin daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

### 2.11.4. Gonadektomi Durumunun Belirlenmesi

Antimüllerian hormon ölümü ile kedi ve köpeklerin kısırlaştırılmış olup olmadığı konusunda bilgi sağlanabilmektedir (Themmen ve ark. 2016, Pir Yağcı ve ark. 2016a,b). Place ve ark. (2011) köpeklerde  $\leq 0.09$  ng/ml AMH seviyesinin, köpeğin kısırlaştırılmış olabileceğinin bir göstergesi olduğunu ifade etmişlerdir. Ancak yaşın ilerlemesine bağlı olarak, AMH seviyesi azalmaktadır (Umer ve ark. 2019). Üç ile altı aylık yaş aralığında bulunan köpeklerin %50'sinde AMH seviyelerinin 0.09 ng/ml'den yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum hatalı negatif sonuçların ortaya çıkmasına yol açabilir. Dolayısıyla AMH seviyelerinin ölümü, gonadektomi operasyonlarının geçmişi hakkında sadece olgun dişi köpeklerde güvenilir sonuçlar vermektedir (Place ve ark. 2011). Axner ve Holst (2015) kısırlaştırılmış 16 kedide yaptıkları çalışmalarında AMH seviyesinin 0.14 ng/ml' nin altında olduğunu tespit etmişler, bu seviye eşi değer kabul edildiğinde, testin sensitivite ve spesifitesini %100 olarak ifade etmişlerdir. Kedilerde ovaryohistektomi operasyonundan sonraki 10.günde AMH seviyesi tespit edilemeyecek kadar düşük seviyelerde (0.08 ng/ml) olmaktadır. Bu nedenle kedilerde gonadektomi durumunun tespitinde AMH seviyesinin ölümü ile daha güvenilir sonuçlar elde edilmektedir (Pir Yağcı ve ark. 2016a).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma için gerekli olan hayvan deneyleri etik kurul izni, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 24.06.2020 tarih ve 2020/04-23 sayılı karar ile onaylandı. Araştırma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklendi (20.D.019).

#### 3.1. Gereç

Çalışmanın hayvan materyalini 08/10/2020-01/03/2022 tarihleri arasında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalına ovaryohisterektomi talebiyle başvuran yaşları 5-48 ay arasında değişen, ortalama  $3.07 \pm 0.5$  kg canlı ağırlığa sahip, klinik muayeneleri sonucunda sistemik bir hastalık belirlenmeyen ve herhangi bir jinekolojik problemi olmayan, en az bir fertil östrüs gösterdiği hasta sahibinden aldığı anamnezle doğrulanan 20 sağlıklı dişi kedi oluşturdu.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması

Çalışmadaki kediler, seksüel siklusun dönemi (foliküler (n=8), luteal (n=4) ve anöstrüs (n=8)), yaş (1 yaş altı (n=8); 1 yaş üstü (n=12)) Pir Yağcı ve ark. (2016a) ve vücut ağırlıklarına (2-3 kg (n=10); 3 kg üstü (n=10)) göre gruplandırıldı.

##### 3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Operasyon öncesinde ve postoperatif 3. ve 10. günlerde serum AMH, E2, P4, FSH ve LH seviyelerini belirlemek amacıyla *v.cephalica*'dan antikoagülsüz serum tüplerine ortalama 3 ml kan alındı (Pir Yağcı ve ark. 2016a). Alınan kan örnekleri 5 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi ve serumları çıkarıldı. Serum örnekleri analizleri yapılmıncaya kadar -20 °C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi.

### **3.2.3. Ovaryohisterektomi Operasyonu**

Çalışmadaki kedilerin anestezisi, 1 mg/kg dozda ksilazin hidroklorür (Basilazin %2, Bavet, Türkiye) ve on dakika sonra 10 mg/kg dozda ketamin hidroklorürün (Ketasol %10, İnterhas, Türkiye) kas içi yolla uygulanmasıyla gerçekleştirildi. Operasyon öncesinde profilaksi amacıyla 20 mg/kg dozda sefazolin sodyum (Sefazol, 250 mg, Mustafa Nevzat, Türkiye) kas içi olarak uygulandı. Ovaryohisterektomi operasyonu mediyan hattın uygulanmış laparotomiyi takiben 3-klomp ovaryohisterektomi yöntemi ile gerçekleştirildi (Santos ve ark. 2022). Operasyonun tamamlanmasına yakın bir zamanda analjezik olarak 0,2 mg/kg dozda meloksikam (Maksikam, Bavet, Türkiye) deri altı olarak uygulandı. Ovaryohisterektomi operasyonları 8 Ekim 2020 ile 1 Mart 2022 tarihleri arasında gerçekleştirildi.

### **3.2.4. Ovaryum Örneklerinin Toplanması**

Ovaryohisterektomi sonrası ovaryumlar, bütünlüklerinin korunmasına dikkat edilerek tuba uterina sınırından diseke edildi. Operasyon sonrası alınan ovaryum örnekleri histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme amacıyla analizleri yapılmaya kadar %10'luk formalin solüsyonunda muhafaza edildi (Alkan-Karakaş ve ark. 2019).

### **3.2.5. Seksüel Siklusun Döneminin Belirlenmesi**

Çalışmadaki kedilerin seksüel siklus dönemleri; anamnez, dişi genital organların postoperatif makroskopik muayenesi ve preoperatif dönemde alınan vajinal sitolojik örneklerin değerlendirilmesi, serum E2 ve P4 seviyelerine göre belirlendi (Yıldırım ve ark. 2014, Hamouzova ve ark. 2017, Tanyapanyachon ve ark. 2018).

#### **3.2.5.1. Vajinal Sitolojik Muayeneler**

Çalışmadaki kedilerin siklus dönemlerinin tespiti için preoperatif vajinal sitolojik muayene yapıldı. Bu amaçla %0,9'luk serum fizyolojik ile ıslatılmış olan pamuk uçlu swap kullanıldı. Swap vulvadın içeriye 2 cm ilerletilerek vestibulum/vajinanın tabanından örnekleme yapıldı. Örnekleme yapıldıktan sonra swap lamlara sürülerek havada kurutuldu. Kurutulan lamların üzerini tamamen kaplayacak şekilde May-Grünwald (Sigma Aldrich)

boya döküldü ve 5 dk beklendi. Herbir lam için 5 ml olacak şekilde, 1 damla Giemsa (Sigma Aldrich) solüsyonu/1 ml distile su hesabıyla Giemsa boya solüsyonu hazırlandı. Daha sonra her bir lamı tamamen kapatacak şekilde Giemsa boya solüsyonu dökülerek 25 dakika beklendi. Bu işlemin ardından lam üzerindeki boya dökülerek distile su ile yıkandı ve havada kurumaya bırakıldı. Preparatlar 4x,10x, 40x'lık büyütmelemlerde vajinal epitel hücrelerinin oranına göre kedilerin siklik dönemi belirlendi (Johnston ve ark. 2001). Vajinal sitoloji sonrası belirlenen hücreler; parabazal, intermediyer ve süperfisiyal hücreler (çekirdekli ve çekirdeksiz) olmak üzere 3 ana başlık altında sınıflandırıldı.

1. Parabazal hücreler; Küçük yapılı, çekirdeği belirgin ve düşük sitoplazma-çekirdek oranına sahip olan hücreler,
2. İntermediyer hücreler; parabazal hücrelere kıyasla daha büyük olan ve sitoplazma-çekirdek oranı daha fazla olan hücreler,
3. Süperfisiyal hücreler; büyük ve düzensiz şekilli, sitoplazma-çekirdek oranı daha büyük olan ve çekirdekleri boya almayan hücreler (Kustritz 2020).

Vajinal sitolojik bulguların siklusun dönemlerine göre incelenmesi Shille ve ark. (1979) ve Mills ve ark. (1979)'in belirttiği şekilde yapıldı. Vajinal sitolojik muayenede arka planın temiz ve %40-60 oranında süperfisiyal hücre olanlar foliküler dönem; %50- 75 intermediyer hücre ve %9- 48 oranında parabazal hücre, nötrofil ve hücre döküntüleri belirlenen örnekler luteal dönem; %50-100 intermediyer ve %10 civarında parabazal hücre olanlar ise anöstrüs dönemi olarak sınıflandırıldı.

### **3.2.5.2. Ovaryum ve Uterusun Makroskopik Muayeneleri**

Çalışmadaki kedilerin seksüel siklus dönemleri; postoperatif makroskopik muayene sonrası foliküler, luteal ve anöstrüs evreleri olmak üzere üç dönemde değerlendirildi. Ödematöz kornu uteri, ovaryum ve uterus ligamentlerindeki artan anastomoz ve ovaryumlarda 2 mm'den büyük foliküllerin görülmesi foliküler dönem olarak kabul edildi. Ovaryumlarda korpus luteumun görülmesi luteal dönem (Yıldırım ve ark. 2014), bir veya her iki ovaryumda 2 mm'den büyük foliküllerin ve korpus luteumların görülmemesi de olgular da anöstrüs dönemi olarak değerlendirildi (Uchikura ve ark. 2011).

### **3.2.5.3. Serum Östradiol 17-β ve Progesterone Değerleri ile Seksüel Siklusun Döneminin Belirlenmesi**

Serum E2 ve P4 değerlerine göre seksüel siklusun döneminin belirlenmesi Hamouzova ve ark. (2017)'a göre değerlendirildi. Buna göre; 20 pg/ml'den düşük E2 değerleri anöstrüs, 1,5 ng/ml'den büyük P4 değerleri luteal dönem, 20 pg/ml'den yüksek E2 değerleri ise östrüs olarak sınıflandırıldı.

### **3.2.6. Antimüllerian Hormon Ölçümü**

Serum AMH seviyelerinin ölçümü için ticari olarak üretilen enzim aracılı immunoabsorban test kiti (Beckman Coulter®, AMH Gen II, USA), kullanım talimatları doğrultusunda kullanıldı. Örnek ve reaktifler -20°C'den çıkartılıp oda sıcaklığına (~25°C) getirildi. Reaktifler kullanılmadan önce hafif ters çevrilerek karıştırıldı. Kalibratörler, kontroller ve örnekler ikili olarak çalışıldı. Mikropleytle örnek eklenmeden önce kalibratörler, kontroller ve test örnekleri AMH Gen II Assay Buffer (60 µL kalibratör, kontrol ya da örnek 300 µL AMH Gen II Assay Buffer) ile hazırlandı. Kalibratör, kontrol ve örneklerden 120 µL kuyucuklara eklendi. Takiben mikropleytle 600-800 rpm'de oda sıcaklığında (~25°C) 1 saat boyunca mikropleytle çalkalayıcı ile inkübe edildi. Daha önce hazırlanan yıkama solüsyonu (Bir birim noninyonik deterjanlı tamponlu salin ile dokuz birim distile su) ile mikropleytle beş kez yıkandı. Mikropleytle emici materyal üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakıldı. Daha sonra her bir kuyucuğa mikro pipet yardımıyla 100 µL antikör-biotin konjugat solüsyonu eklendi ve mikropleytle çalkalayıcı ile 600-800 rpm'de oda sıcaklığında (~25°C) 1 saat inkübe edildi. Takiben mikropleytle yıkama solüsyonu ile beş kez yıkandı ve emici materyal üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakıldı. Mikropleytlelerdeki her bir kuyucuğa 100 µL streptavidin-enzim konjugatı eklendi ve mikropleytle çalkalayıcı ile 600-800 rpm'de oda sıcaklığında (~25°C) 30 dk boyunca inkübe edildi. Takiben mikropleytle yıkama solüsyonu ile beş kez yıkandı, emici materyal üzerine ters çevrilerek kurumaya bırakıldı. Daha sonra mikropleytledeki her bir kuyucuğa 100 µL TMB kromojen çözeltisi eklendi. Mikropleytle, mikropleytle çalkalayıcı ile 600-800 rpm'de oda sıcaklığında (~25°C) 8-12 dk boyunca inkübe edildi. Mikropleytledeki her bir kuyucuğa 100 µL durdurma solüsyonu eklendi. Mikropleytledeki kuyucuklardaki solüsyonun absorbansı 450 nm değerine

ayarlanmış ELIZA okuyucu (Erba Manheim, Lisascan) ile 30 dk sonra okundu. Beckman Coulter AMH Gen II ELIZA kitinin minimum ölçüm aralığı 0.08 ng/ml idi.

### **3.2.7. Östradiol 17-β, Progesteron, Folikül Uyaran Hormon ve Luteinizan Hormon Ölçümleri**

Alınan kan örneklerinden elde edilen serum örneklerinde, E2, P4, FSH ve LH seviyeleri Electrochemiluminescence Immunoassay kitleri kullanılarak Atellica IM Analyzer (Siemens Healthineers) cihazı ile ölçüldü. Östradiol-17β, progesteron, FSH ve LH için kullanılan kitlerin ölçüm aralıkları sırasıyla 11,80-3000 pg/ml; 0,21-60 ng/ml; 0,30-200 mIU/ml; 0,07-200 mIU/ml idi. Ölçüm sonunda mIU/ml olarak ifade edilen FSH ve LH hormon seviyeleri ng/ml olarak değiştirildi.

### **3.2.8. Histopatolojik İnceleme**

Histopatolojik inceleme için alınan örnekler tespit sonrasında 5 mm kalınlığında küçültülerek bir gece akan çeşme suyunda yıkandı. Rutin olarak etil alkol, ksilol ve parafin serilerinden geçirilerek tespit edildikten sonra parafinde bloklandı. Bu şekilde hazırlanan doku bloklarından mikrotomla 4 mikron kalınlığında alınan kesitler; önce 37°C'lik su banyosuna atılıp açılmaları sağlandı ve sonra da lamlara alınarak 30 dakika 54°C'lik etüvde kurutuldu. Bütün doku kesitlerine rutin hematoksilin eozin (HE) boya yöntemi uygulandı. Bu amaçla lama alınan kesitler; ksilende 3 kez 5'er dakika bekletilerek deparafinize edildi. Sırayla alkol serilerinden geçirilerek rehidre edildi. Harris'in hematoksilin-eozin (HE) yöntemine göre boyandı. Tekrar alkol ksilolden geçirilip yapıştırıcı (Entellan) yardımıyla lamel ile kapatıldı. Işık mikroskop (Olympus CX31) altında incelendikten sonra mikrofotografaları (Olympus DP12) alındı.

### **3.2.9. İmmunohistokimyasal İnceleme**

Dokulardaki Anti-AMH ifadesini ve lokalizasyonunu göstermek için Avidin Biotin Peroksidaz Kompleks (ABC) tekniği, ticari kitte (SensiTek HRP, ScyTek Laboratories, Logan, UT®) öngörülen standart prosedüre göre yapıldı. Primer antikör olarak Anti-AMH antikoru (ab103233) (+4 °C'de 1 gece) (sulandırma oranı 1/50) kullanıldı. Endojen peroksidaz aktivite blokajı için %3'lük H2O2 metanol; endojen biotin blokajı için ise

endogenous avidin/biotin blocking kiti (ab64212) kullanıldı. Antijen retrieval olarak proteinase K (Abcam, ab64220®); negatif kontrol olarak dokulara PBS (Phosphate Buffered Saline) uygulandı. Kromojen olarak 3,3'- diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB, ScyTek Laboratories, Logan, UT®) kullanıldı. Zemin boyaması için, Harris hematoksilen uygulandı. Dokuların mikroskopik değerlendirmesi uzman bir kişi tarafından yapıldı. Foliküller, primordiyal, sekonder, antral ve atretik foliküller olmak üzere dört grupta sınıflandırıldı (Bristol-Gould ve Woodruff 2006, Saint-Dizier ve ark. 2007). İmmunohistokimya sonuçları ise 0 (reaksiyon yok), 1+ (hafif), 2+ (orta) ve 3+ (şiddetli) olarak sınıflandırıldı (Evkuran Dal ve ark. 2013).

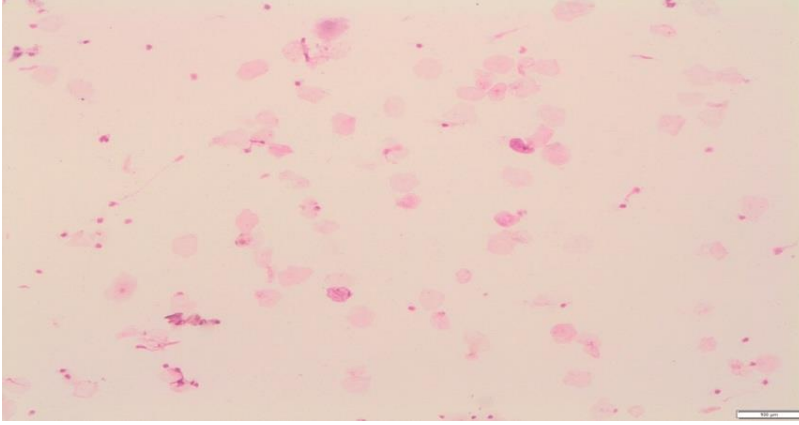
### **3.2.10. İstatistiksel Analizler**

Önemlilik testlerine geçilmeden önce değişkenler, normallik yönünden Shapiro Wilk testi, varyansların homojenliği yönünden Levene testi ile incelendi. Çalışmada, AMH protein seviyesinin zaman (operasyon öncesi 0. gün, postoperatif 3. gün ve 10. gün) açısından değerlendirilmesinde tekrarlı ölçümlerde varyans analizi yönteminden yararlandı. İleri aşama (post-hoc) testi olarak Bonferroni düzeltmeli basit etki analizi yapıldı. Ölçülen AMH seviyelerinin vücut ağırlığı (2-3 kg ve >3 kg) ve yaş (<12 yaş ve ≥12 yaş) grupları, zaman (operasyon öncesi 0. gün, operasyon sonrası 3. gün ve 10. gün) ve bunların etkileşimi açısından değerlendirilmesinde iki yönlü karma ANOVA yöntemi tercih edildi. İleri aşama (post-hoc) testi olarak Bonferroni düzeltmeli basit etki analizinden yararlandı. Antimüllerian Hormon protein seviyesinin, seksüel siklusun dönemi (foliküler, diöstrüs ve anöstrüs) açısından değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis testi kullanıldı. İleri aşama (post-hoc) testi olarak Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi tercih edildi. Çalışmada ölçülen E2, P4, FSH ve LH hormon seviyelerinin zaman grupları (operasyon öncesi 0. gün, postoperatif 3. gün ve 10. gün) açısından değerlendirilmesi tekrarlı ölçümler varyans analizi kullanılarak değerlendirildi. Farklılığın tespit edildiği durumlarda, farklılığa hangi zamanın neden olduğunun belirlenmesi için Bonferroni düzeltmeli post hoc analizleri uygulandı. Herbir zaman grubunda ayrı olmak üzere AMH, E2, P4, FSH ve LH hormon seviyelerinin ilişkisi Spearman korelasyon katsayısı kullanılarak belirlendi. Tüm istatistiksel analizler Stata 12/MP4 (Lisans No: 50120500264) istatistik paket programı ile yapıldı ve  $p < 0.05$  önemlilik kriteri dikkate alınarak kıyaslandı.

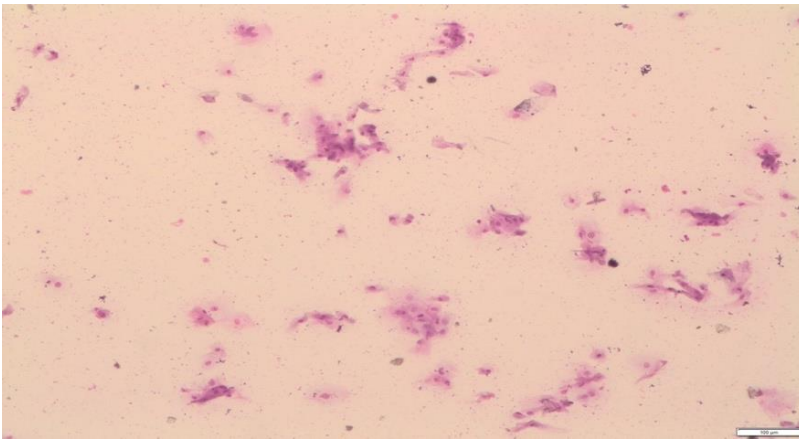
## 4. BULGULAR

### 4.1. Vajinal Sitoloji ve Genital Organların Makroskopik Bulguları

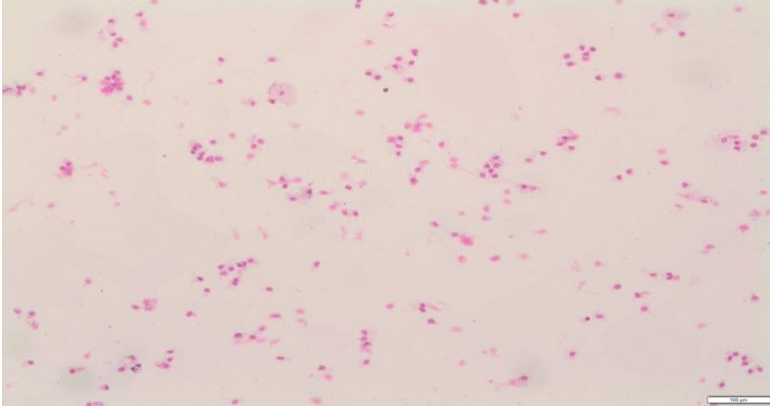
Vajinal sitolojik muayene bulguları ve genital organların postoperatif makroskopik muayene bulguları sonucu çalışmadaki kedilerin 8 tanesinin foliküler dönemde (8/20) (Şekil 4.1 ve Şekil 4.4), 4 tanesinin luteal dönemde (4/20) (Şekil 4.2 ve Şekil 4.5) ve kalan 8 tanesinin ise anöstrüs (8/20) dönemde (Şekil 4.3 ve Şekil 4.6) olduğu tespit edildi.



**Şekil 4.1.** Foliküler dönemde olan bir kedinin vajinal sitolojisinin mikroskopik görüntüsü, May Grünwald-Giemsa



**Şekil 4.2.** Luteal döneminde olan bir kedinin vajinal sitolojisinin mikroskopik görüntüsü, May Grünwald-Giemsa



**Şekil 4.3.** Anöstrüs döneminde olan bir kedinin vajinal sitolojisinin mikroskopik görüntüsü, May Grünwald-Giemsa



**Şekil 4.4.** Foliküler dönemde olan bir kedinin ovaryumunun makroskopik görüntüsü



**Şekil 4.5.** Luteal dönemde olan bir kedinin ovaryumunun makroskopik görüntüsü



Şekil 4.6. Anöstrüs döneminde olan bir kedinin ovaryumunun makroskopik görüntüsü

## 4.2. Hormon Bulguları

Yapılan çalışmada operasyon öncesi (0.gün) alınan 20 adet kan örneğinin 11 adedinde FSH, 17 adedinde LH, postoperatif 3.günde ise alınan kan örneklerinden 10 adedinde FSH, 13 adedinde LH, postoperatif 10.günde ise alınan kan örneklerinden 6 adedinde FSH, 3 adedinde LH değerleri ölçüm yapılmasına rağmen tespit edilemeyecek seviyeler arasındaydı.

### 4.2.1 Serum AMH Seviyeleri

Sunulan çalışmada, AMH seviyesinde ovaryohistektomi operasyonu öncesine göre (0.gün) postoperatif 3. ve 10. günlerde anlamlı bir azalma görüldü ( $p<0.05$ ). Postoperatif 3. ve 10.günler arasında ise istatistiksel bir fark tespit edilemedi. Çalışmada örnekleme zamanlarına göre serum AMH değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Örnekleme zamanına göre serum AMH değerlerindeki değişimler(ng/ml).

AMH (n=20)	Örnekleme zamanı			P
	0.gün	3.gün	10.gün	
	4.352 ± 0.182 <sup>a</sup>	0.735 ± 0.187 <sup>b</sup>	0.318 ± 0.192 <sup>b</sup>	<0.001

<sup>a,b</sup>: Farklı harfler günler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ( $P<0.05$ ).

Seksüel siklusun dönemi ile AMH seviyeleri bakımından istatistiksel bir ilişki belirlenmedi ( $p>0.05$ ). Seksüel siklusun dönemlerine göre sınıflandırılan serum örneklerinde östrojen seviyeleri bakımından östrüs ve diöstrüs dönemleri arasında herhangi bir fark tespit edilmezken ( $p>0.05$ ), anöstrüs dönemindeki östrojen seviyelerinin diöstrüs ve anöstrüse göre istatistiksel olarak düşük olduğu tespit edildi ( $p<0.05$ ). Serum progesteron seviyesi diöstrüs döneminde, östrüs ve anöstrüs dönemine kıyasla istatistiksel olarak yüksek tespit edildi ( $p<0.05$ ). Ancak, anöstrüs ve östrüs dönemlerinde serum progesteron seviyeleri bakımından istatistiksel olarak herhangi bir fark görülmedi ( $p>0.05$ ). Seksüel siklusun dönemlerine göre serum AMH, E2 ve P4 değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.2.** Seksüel siklusun dönemine göre AMH, E2 ve P4 değerleri

Hormon	Seksüel Siklusun Dönemi			P
	Luteal (n=4)	Foliküler (n=8)	Anöstrüs (n=8)	
AMH (ng/ml)	4.748 ± 0.825	4.153 ± 0.673	4.353 ± 0.535	0.960
E2 (pg/ml)	26.662±5.326 <sup>a</sup>	26.239 ±1.750 <sup>a</sup>	13.598 ± 1.099 <sup>b</sup>	0.001
P4 (ng/ml)	9.815 ±3.086 <sup>a</sup>	0.515±0.076 <sup>b</sup>	0.403±0.063 <sup>b</sup>	0.007

<sup>a,b</sup>: Farklı harfler günler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ( $p<0.05$ ).

Yaş ve vücut ağırlığı ile serum AMH seviyeleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.3.** Vücut ağırlığına göre elde edilen AMH değerleri (ng/ml)

Vücut Ağırlığı	Örnekleme Zamanı			P		
	0	3	10	Vücut Ağırlığı	Zaman	VxZ
2-3 kg (n=10)	4.782 ± 0.423 <sup>a</sup>	0.821 ± 0.137 <sup>b</sup>	0.403 ± 0.090 <sup>b</sup>	0.079	<0.001	0.238
> 3 kg (n=10)	3.706 ± 0.618 <sup>a</sup>	0.599 ± 0.110 <sup>b</sup>	0.211 ± 0.051 <sup>b</sup>			

<sup>a,b</sup>: Farklı harfler günler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ( $p<0.05$ ).

**Çizelge 4.4.** Yaşa göre elde edilen AMH değerleri (ng/ml)

Yaş	Örnekleme Zamanı			P		
	0	3	10	Yaş	Zaman	YxZ
< 12 ay (n=8)	4.604 ± 0.855 <sup>a</sup>	0.930 ± 0.284 <sup>b</sup>	0.310 ± 0.141 <sup>b</sup>	0.534	<0.001	0.786
> 12 ay (n=12)	4.146 ± 0.498 <sup>a</sup>	0.667 ± 0.101 <sup>b</sup>	0.354 ± 0.081 <sup>b</sup>			

<sup>a,b</sup>: Farklı harfler günler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

#### 4.2.2. Serum Östrojen ve Progesteron Seviyeleri

Serum östrojen seviyelerinde postoperatif 3. günde operasyon öncesine (0.gün) göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlendi (p<0.05). Ancak serum östrojen seviyelerinin postoperatif 10. günde postoperatif 3.güne kıyasla anlamlı bir artış göstererek (p<0.05) operasyon öncesi (0.gün) düzeylerine yaklaştığı (p>0.05) gözlemlendi.

Ovaryohistektomi operasyonunun serum progesteron seviyeleri üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde postoperatif 3. günde operasyon öncesine göre dramatik bir düşüş gösterdiği (p<0.05), ancak postoperatif 3.gün ile 10.gün arasındaki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulundu (p>0.05). Örnekleme yapılan günlerdeki serum östrojen ve progesteron değerlerindeki değişimler Çizelge 4.5’de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.5.** Örnekleme yapılan dönemlerde serum östrojen ve progesteron değerlerindeki değişimler

Hormonlar	Örnekleme zamanı			P
	0.gün	3.gün	10.gün	
E2 (pg/ml) (n=20)	21.267 ± 1.895 <sup>a</sup>	16.729 ± 1.751 <sup>b</sup>	20.144 ± 1.427 <sup>a</sup>	0.002
P4 (ng/ml) (n=20)	2.330 ± 1.020 <sup>a</sup>	0.484 ± 0.040 <sup>b</sup>	0.453 ± 0.040 <sup>b</sup>	0.043

<sup>a,b</sup>: Farklı harfler günler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (p<0.05).

#### 4.2.3. Serum FSH ve LH Seviyeleri

Çalışmada incelenen serum örneklerinde FSH seviyelerinde operasyon öncesine (0.gün) kıyasla postoperatif 3. ve 10.günlerde tedrici bir artış belirlenirken, postoperatif 10.günde operasyon öncesine göre istatistiksel bir artış tespit edildi (p<0.05).

Serum LH seviyeleri incelendiğinde operasyon öncesine (0.gün) kıyasla postoperatif 3. günde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş (p>0.05) belirlendi.

Ancak, postoperatif 10. günde operasyon öncesi ve postoperatif 3.güne kıyasla anlamlı bir artış gösterdiği bulundu ( $p<0.05$ ). Örnekleme zamanına göre serum FSH ve LH seviyelerindeki değişimler Çizelge 4.6'de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.6.** Örnekleme zamanına göre serum FSH ve LH seviyelerindeki değişimler.

Hormonlar	Örnekleme zaman			P
	0.gün	3.gün	10.gün	
<b>FSH (ng/ml) (n=20)</b>	0.323 ± 0.075 <sup>b</sup>	0.424±0.074 <sup>a,b</sup>	0.478 ± 0.070 <sup>a</sup>	0.021
<b>LH (ng/ml) (n=20)</b>	0.173 ± 0.163 <sup>b</sup>	0.083 ± 0.033 <sup>b</sup>	0.435 ± 0.086 <sup>a</sup>	0.009

<sup>a,b</sup>: Farklı harfler günler arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir ( $P<0.05$ ).

#### 4.3. Serum AMH, E2, P4, FSH ve LH Değerleri Arasındaki Korelasyon

Operasyon öncesi (0.gün) serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasında herhangi bir korelasyon tespit edilmedi (Çizelge 4.7). Postoperatif 3.günde serum FSH ve LH seviyeleri arasında negatif bir korelasyon tespit edilirken ( $p<0.01$ ), AMH ve LH seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon gözlemlendi ( $p<0.05$ ). Serum E2 ile P4 seviyeleri arasındaki ise postoperatif 3.günde pozitif bir korelasyon saptandı ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.8). Postoperatif 10.günde serum E2 ve FSH seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi ( $p<0.05$ ). Serum AMH ve E2 seviyeleri arasında negatif korelasyon saptandı ( $p<0.05$ ). Postoperatif 10.günde serum AMH ve FSH seviyeleri arasında ise negatif bir korelasyon tespit edildi ( $p<0.001$ ) (Çizelge 4.9).

**Çizelge 4.7.** Operasyon öncesi serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasındaki korelasyon ve önem değerleri

		AMH	E2	P4	FSH	LH
<b>0.gün</b>	<b>AMH</b>	1.000	-0.120	-0.247	0.477	-
	<b>E2</b>		1.000	0.442	-0.084	-
	<b>P4</b>				0.469	-
	<b>FSH</b>				1.000	-
	<b>LH</b>					1.000

\*. Korelasyon 0.05 seviyesinde önemlidir.

\*\*. Korelasyon 0.01 seviyesinde önemlidir.

\*\*\*. Korelasyon 0.001 seviyesinde önemlidir.

**Çizelge 4.8.** Postoperatif 3.günde serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasındaki korelasyon ve önem değerleri

		<b>AMH</b>	<b>E2</b>	<b>P4</b>	<b>FSH</b>	<b>LH</b>
<b>Postoperatif 3.gün</b>	<b>AMH</b>	1.000	-0.414	-0.237	-0.483	0.882*
	<b>E2</b>		1.000	0.545*	0.089	-0.667
	<b>P4</b>			1.000	-0.176	0.779
	<b>FSH</b>				1.000	-0.983**
	<b>LH</b>					1.000

\*. Korelasyon 0.05 seviyesinde önemlidir.

\*\*. Korelasyon 0.01 seviyesinde önemlidir.

\*\*\*. Korelasyon 0.001 seviyesinde önemlidir.

**Çizelge 4.9.** Postoperatif 10.günde serum AMH, E2, P4, FSH ve LH değerleri arasındaki korelasyon ve önem değerleri

		<b>AMH</b>	<b>E2</b>	<b>P4</b>	<b>FSH</b>	<b>LH</b>
<b>Postoperatif 10.gün</b>	<b>AMH</b>	1.000	-0,672**	-0,192	-0,872***	0,455
	<b>E2</b>		1.000	0,395	0,548*	-0,366
	<b>P4</b>			1.000	0.008	0.328
	<b>FSH</b>				1.000	-0.403
	<b>LH</b>					1.000

\*. Korelasyon 0.05 seviyesinde önemlidir.

\*\*. Korelasyon 0.01 seviyesinde önemlidir.

\*\*\*. Korelasyon 0.001 seviyesinde önemlidir.

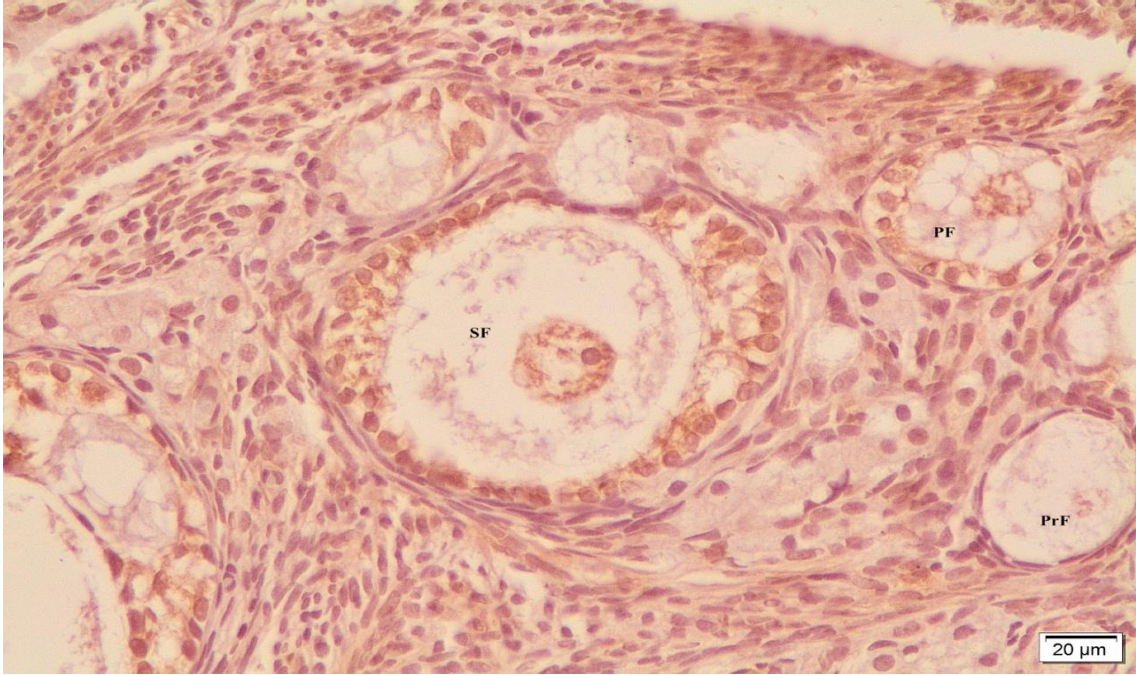
#### **4.4. İmmunohistokimyasal Bulgular**

Çalışmada yapılan immunohistokimyasal boyama sonucunda kedilerde AMH immun reaksiyonun foliküllerin gelişim aşamaları ile paralel olarak artış gösterdiği belirlendi. Primordiyal foliküllerde herhangi bir AMH immunpozitiflik tespit edilmedi (Şekil 4.7). Primer foliküllerden itibaren AMH immunpozitifliğinin şekillenmeye başladığı görüldü. Primer foliküllerde hafif (+1), sekonder foliküllerde orta (+2), antral foliküllerde ise şiddetli (+3) AMH immunpozitifliği belirlendi (Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9). Tekal hücrelerde herhangi bir AMH immunpozitifliğine rastlanmadı (Şekil 4.10). Antral foliküllerde kumulus ooforus ve korono radiatada şiddetli (+3) AMH immunpozitifliği tespit edilirken (Şekil 4.9), mural hücrelerde ise hafif (+1) bir AMH immunpozitifliğine rastlandı (Şekil 4.10). Zona pellisudada AMH immunpozitiflik tespit edilmedi (Şekil 4.9).

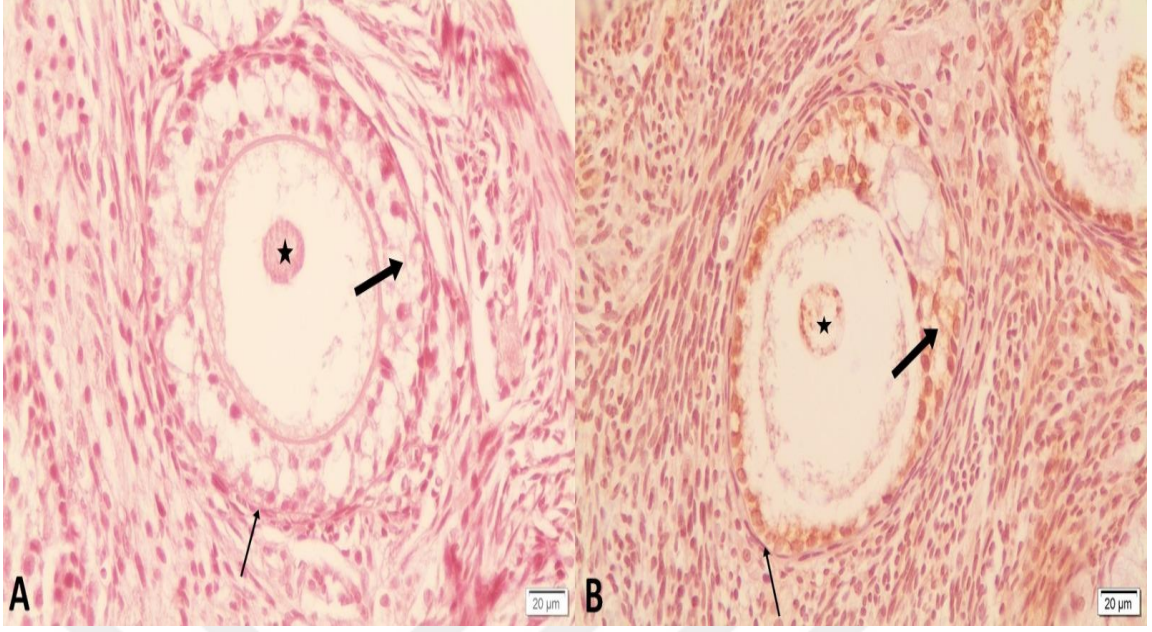
Atretik foliküllerde hafif (+1) bir AMH immunpozitiflik dikkati çekti (Şekil 4.11). İmmunohistokimyasal inceleme sonucunda şekillenen immunpozitifliğin derecelendirme sonuçları Çizelge 4.10'de gösterilmektedir.

**Çizelge 4.10.** Foliküllerde AMH immunpozitiflik skorlaması

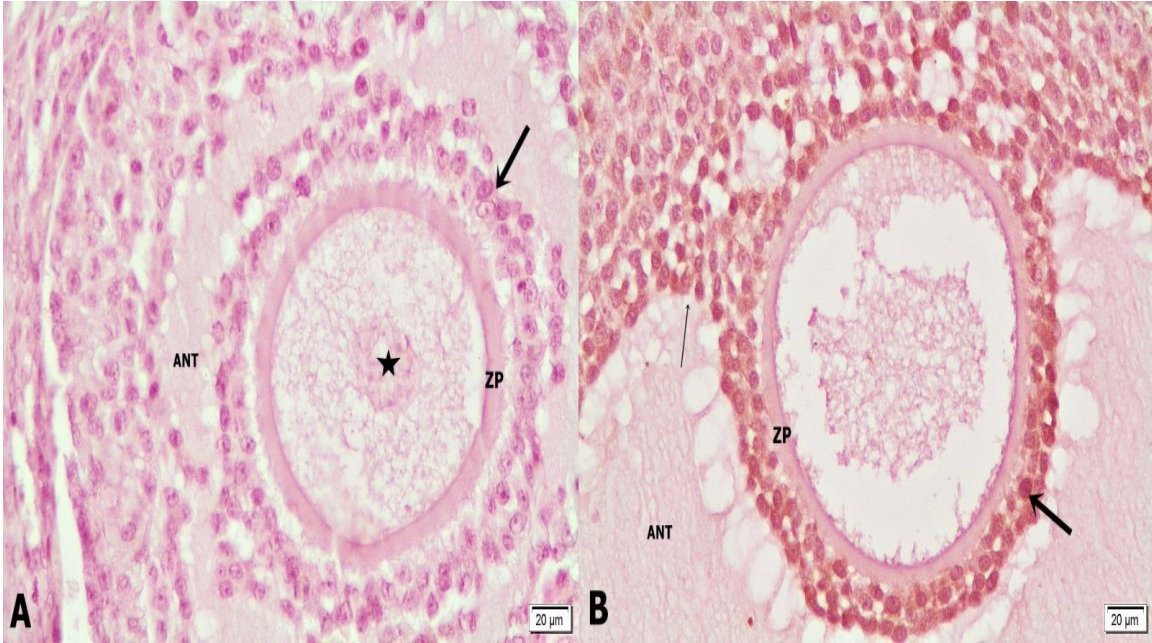
Folikül Sınıflandırılması ve foliküler yapılar	Derece
Primordiyal Folikül	-
Primer Folikül	+
Sekunder Folikül	++
Antral Folikül	+++
Atretik Folikül	+
Tekal Hücreler	-
Kumulus Ooforus	+++
Korono Radiata	+++
Mural Granüloza Hücreleri	+
Zona Pellusida	-



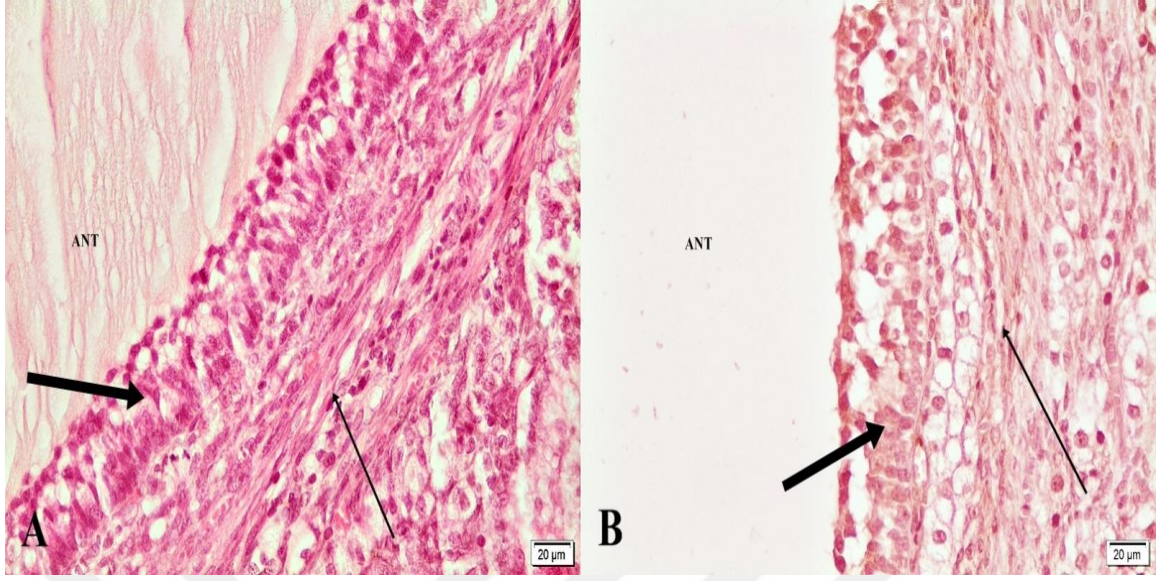
**Şekil 4.7.** Primordiyal, primer ve sekunder foliküllerdeki AMH üretimi. Primordiyal Folikül (PrF), (Primer Folikül) PF, Sekunder Folikül (SF) 40x, IHC.



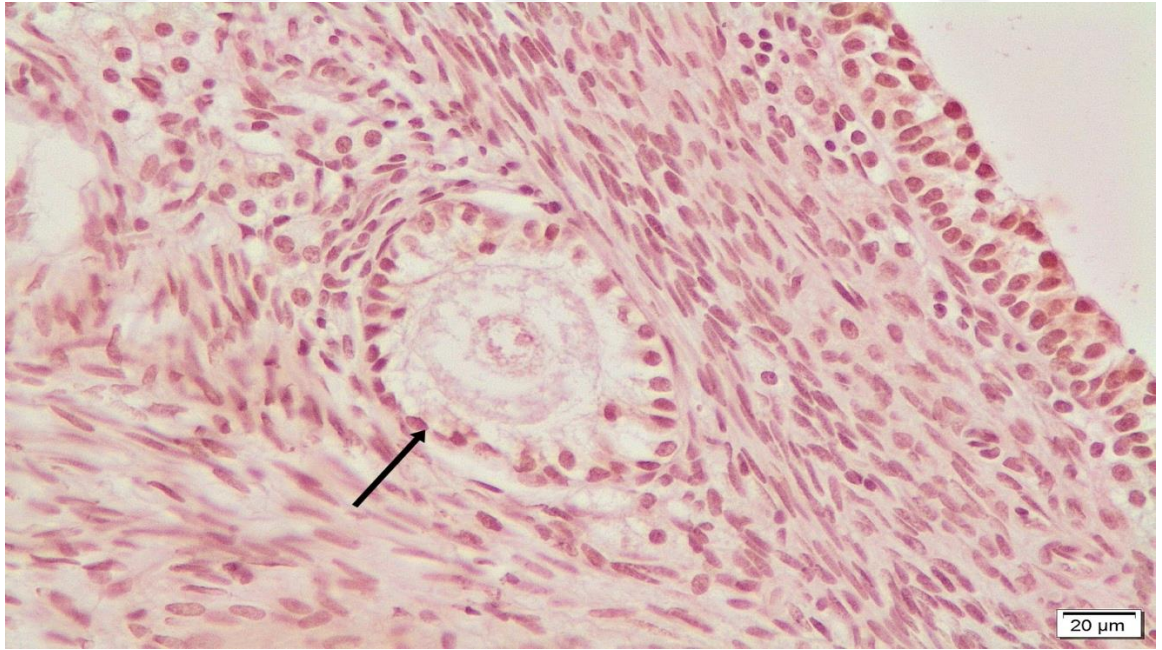
**Şekil 4.8.** Sekunder foliküllerde AMH üretimi. A: Sekunder foliküllerin histopatolojik görünümü; granüloza hücreleri (kalın ok), tekal hücreler (ince ok); oosit (yıldız) 40x, HE. B: Sekunder foliküllerde AMH pozitifliği; granüloza hücreleri (kalın ok), tekal hücreler (ince ok); oosit (yıldız) 40x, IHC.



**Şekil 4.9.** Kumulus Ooforus. A: Kumulus ooforus'un histopatolojik görünümü; antrum (ANT), zona Pellusida (ZP), oosit (yıldız) 40x, HE. B: Kumulus ooforusu AMH pozitifliği; antrum (ANT), zona pellusida (ZP), kumulus ooforus (ince ok), oosit (yıldız) 40x, IHC.



**Şekil 4.10.** Mural granüloza ve tekal hücrelerde AMH üretimi. A: mural granüzola ve tekal hücrelerin histopatolojik görünümü; antrum (ANT), granüloza hücreleri (kalın ok), ince ok (tekal hücreler) 40x, HE. B: mural granüzola ve tekal hücrelerinde AMH pozitifliği; antrum (ANT), granüloza hücreleri (kalın ok), ince ok (tekal hücreler) 40x, IHC.



**Şekil 4.11.** Sekunder atretik foliküllerde AMH pozitifliği (ok) 40x, IHC

## 5. TARTIŞMA

Yapılan bu çalışmada kedilerde AMH'nın folikülogenezisteki rolü ve ovaryohisterektomi sonrası seyrinin araştırılması amaçlandı. Planlanan çalışmanın temel hipotezleri dikkate alınarak yeterli güçte minimum örneklem büyüklüğünün belirlenebilmesi için ilk etapta literatür taraması yapıldı. Konu ile ilgili farklı çalışmalarda; Saint-Dizier ve ark. (2007) 8 kedi ile, Tanyapanyachon ve ark. (2018) 21 kedi ile ve Alkan ve ark. (2019) 36 köpek ile çalışmıştır. Çalışma öncesinde gerekli minimum örneklem büyüklüğünün belirlenmesi için bahsedilen literatürden yararlanılarak ve tip 1 hata olasılığı ( $\alpha$ ) = 0.05, güç (1- $\beta$ ) = 0.80 kriterleri kullanılarak, AMH, E2, P4, FSH ve LH seviyelerinin kit grubu, zaman ve bunların etkileşimindeki farklılıklarının değerlendirileceği araştırma düzeninde etki büyüklüğü ( $f$ )=0.6 kabul edilmek üzere, toplamda minimum 18 kedinin çalışmada yer almasının uygun olacağı hesaplanmıştır.

Çalışmada kullanılan 20 kedinin sikluslarının evreleri, 8 tanesinin foliküler, 4 tanesinin luteal ve 8 tanesinin de anöstrüs döneminde olduğu tespit edildi. Gruplar incelendiğinde luteal evredeki hayvan sayısının foliküler ve anöstrüs dönemindeki kedi sayısına göre düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun kedilerde ovulasyonun provoke olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Ancak kedilerde; dokunma, erkek etkisi, canlı ağırlık ve yaş gibi faktörlere bağlı olarak %22-56 oranında spontan ovulasyon görülebilmektedir (Lawler ve ark. 1993, Arthur ve ark. 1996, Gudermuth ve ark. 1997, Pelican ve ark. 2005, Binder ve ark. 2019). Luteal gruptaki sayının diğer gruplara göre az olmasının sebebi kedilerin bu fizyolojik özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Üreme mevsimine giren kedilerde azalan melatonin hormon seviyesine bağlı olarak GnRH seviyesi artmaktadır. Buna bağlı olarak hipofizden salınan FSH, foliküler gelişimi uyarmakta, 3-7 adet foliküller gelişmeye başlayarak E2 üretmeye başlamaktadır (Goodrowe ve ark. 1989, Schäfer-Somi 2017). Östrüs dönemindeki kedilerde serum E2 seviyelerinin genellikle 20 ile 40 pg/ml arasında olduğu, çiftleşme anında ise bu değer 60 pg/ml'a kadar yükseldiği vurgulanmaktadır (Verhage ve ark. 1976, Schmidt 1986). Çalışmada östrüs döneminde elde edilen östradiol düzeylerinin literatür sınırlar içerisinde olduğu

görülmektedir (Çizelge 4.2). Kedilerde östradiol 17- $\beta$  seviyelerinin yüksek olduğu diğer bir dönem de östrüs döneminin sonuna doğru sekizinci günler civarında olduğu belirtilmekte, çiftleşme olmadığı takdirde 10-15 pg/ml seviyelerine düştüğü ifade edilmektedir. Bu dönem seksüel aktivitenin ve ovulasyonun şekillenmediği interöstral dönem olarak ifade edilmektedir (Verhage ve ark. 1976, Feldman ve Nelson 1996, Hillier 2001, Termelioğlu ve ark. 2022).

Çalışmada östradiol 17- $\beta$  seviyesinin luteal döneminde (n=4) östrüs dönemine (n=8) benzer, fakat anöstrüs dönemine göre ise yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Çalışmamızda elde edilen verilerle uyumlu olarak Santos ve ark. (2022) kedilerde diöstrüs döneminde östradiol 17- $\beta$  seviyesinin yüksek olduğunu ifade etmektedirler. Termelioğlu ve ark. (2022), yaptıkları çalışmalarında bu durumu luteal dönemde de foliküler aktivitenin devam ettiği şeklinde açıklamaktadır. Ancak bu konu ile endokrinolojik, histolojik olarak detaylı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Kedilerde anöstrüs dönemi seksüel aktivitenin olmadığı dönem olarak tanımlanmaktadır. Bu dönemde serum östradiol 17- $\beta$  seviyesinin bazal seviyelere indiği ifade edilmektedir (Johnston ve ark. 2001). Bu dönemde serum östradiol 17- $\beta$  seviyesinin  $3.20 \pm 1.24$  pg/ml ile 12 pg/ml arasında değiştiği ifade edilmektedir. Sunulan çalışmada anöstrüs dönemindeki kedilerde (n=8) serum östradiol 17- $\beta$  seviyesinin ( $13,598 \pm 1,099$  ng/ml) daha önceki çalışmalara (Johnston ve ark. 2001, Feldman ve Nelson 2004, Termelioğlu ve ark. 2022) benzer olduğu görülmektedir (Çizelge 4.2). Ayrıca elde edilen östradiol 17- $\beta$  düzeyleri anöstrüs evresinde foliküler gelişimin olduğunu ancak bu gelişim düzeylerinin seksüel aktivite için yeterli olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmada diöstrüs (n=4) dönemindeki progesteron değerlerinin ( $9.815 \pm 3,086$  ng/ml) anöstrüs (n=8) ve östrüs (n=8) değerlerinden yüksek olduğu tespit edildi. Östrüs ve anöstrüs dönemlerinde ise progesteron değerlerinin bazal seviyenin altında (<1 ng/ml) olduğu görüldü (Çizelge 4.2). Diöstrüs dönemi aktif olarak progesteron üreten bir KL'nin bulunduğu dönem olarak ifade edilmektedir (Bristol-Gould ve Woodruff 2006). Diöstrüs döneminde genel olarak ovulasyondan sonraki ilk iki gün içerisinde progesteron seviyesi tespit edilemeyecek seviyelerdedir. Ovulasyondan iki gün sonra progesteron seviyesi bazal seviyenin üzerine çıkarak yavaş yavaş artmaya başlar, 10-12. günlerde 15 ng/ml'nin üzerine

çıkar (Verhage ve ark. 1976, Shille ve Stabenfeldt 1979). Gebeliğin şekillenmediği durumlarda ise maksimum progesteron seviyesinin 25.8 ng/ml ile ovulasyondan sonraki 16 ile 17. günler arasında şekillendiği bildirilmektedir. Ovulasyondan sonraki 35. günlerde ise bazal seviyeye inmekte olduğu vurgulanmaktadır (Paape ve ark. 1975, Tsutsui ve Stabenfeldt 1993). Elde edilen değerler luteal gruptaki kedilerin siklusun östrüs sonrası 3-12. günler arasındaki evrede olduğunu düşündürmektedir.

Anöstrüs (n=8) ve östrüs (n=8) dönemlerinde ise progesteron seviyelerinin genellikle bazal seviyenin altında olduğu bildirilmektedir (Feldman ve Nellson 2004, Termelioğlu ve ark. 2022). Termelioğlu ve ark. (2022) anöstrüs ve östrüs dönemlerinde serum progesteron değerlerinin sırasıyla  $0.58 \pm 0.28$  ng/ml ve  $0.84 \pm 0.25$  ng/ml olduğunu ifade etmektedirler. Çalışmamızda anöstrüs ve östrüs dönemlerinde serum progesteron seviyelerinin bazal seviyenin altında olduğu (Çizelge 4.2) ve bu bakımdan daha önce yapılan çalışmalara benzer olduğu görülmektedir. Ayrıca, östrüs döneminde görülen düşük progesteron seviyesi köpeklerde görülen preovulatorik luteinizasyon olgusunun kedilerde şekillenmediğini göstermektedir (Swanson ve ark. 1994).

Kedilerde AMH'nın başlıca ovaryumdan sentezlendiği düşünülmektedir (Place ve ark. 2011, Axner ve Holst 2015, Pir Yağcı ve ark. 2016a,b, Heaps ve ark. 2017, Gültiken ve ark. 2022). Antimüllerian Hormon'un, GCT ve ORS olgularının tanısında (Heaps ve ark. 2017, Flock ve ark. 2022a), yardımcı üreme tekniklerinde (Snoeck ve ark. 2017) ve gonadektomi durumunun belirlenmesi gerektiği durumlarda (Pir Yağcı ve ark. 2016a) endike olduğu görülmektedir. Kedi ve köpeklerde yapılan çalışmalarda kısırlaştırma operasyonu sonrası AMH seviyesinin düştüğü ifade edilmekte, ovaryumdan AMH ekspresyonu ile serum AMH seviyesinin paralellik gösterdiği belirtilmektedir. Kısırlaştırılmış kedilerde serum AMH değerlerinin 0.04 ile 0.5 ng/ml arasında değişen düzeylerde olduğu bildirilmektedir (Place ve ark. 2011, Axner ve Holst 2015, Pir Yağcı ve ark. 2016a,b, Heaps ve ark. 2017, Gültiken ve ark. 2022). Sunulan çalışmada ovaryohisterektomi operasyonu sonrası AMH seviyesinde belirlenen düşüş ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.1), AMH'nın ovaryum kaynaklı bir hormon olduğu görüşünü desteklemektedir. Çalışmada 10.gün serum AMH değerleri ortalamalarının ( $0.318 \pm 0.192$  ng/ml) literatür verileriyle uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1).

Serum AMH seviyesinin yaşa bağlı olarak azaldığı bildirilmektedir (Lahoz ve ark. 2014, Ball ve ark. 2019, Ferré-Dolcet ve ark. 2022). Snoeck ve ark. (2017) yaptıkları çalışmalarında üç aylıktan küçük kedilerde AMH seviyesinin 18.71 ng/ml, 12 aylıktan büyük kedilerde ise 4.13 ng/ml seviyelerinde olduğu bildirilmektedirler. Ferré-Dolcet ve ark. (2022), bir yaş altı kedilerde serum AMH seviyesinin 8-9 ng/ml, bir yaşından büyük kedilerde ise 6-7 ng/ml arasında olduğu ifade etmektedirler. Pir Yağcı ve ark. (2016a) ise tam tersi olarak 12 aylıktan küçük kedilerin 12 aylıktan büyük kedilere göre daha düşük serum AMH seviyeleri tespit etmiştir. Yapılan bu çalışmada bir yaşından büyük olan kedilerde (n=12) serum AMH seviyesinin ortalamasının  $4.146 \pm 0.498$ ; bir yaşından küçük kedilerde (n=8) ise bu seviyenin  $4.604 \pm 0.855$  olduğu, elde edilen sonuçların Snoeck ve ark. (2017) ve Ferré-Dolcet ve ark. (2022)'nin sonuçlarına benzer eğilimde olduğu, Pir Yağcı ve ark. (2016a) elde ettikleri sonuçlardan farklı olduğu görülmektedir.

Seksüel siklus boyunca AMH'nin seyri türlere göre değişmektedir. Kadınlarda menstruasyon siklusu boyunca AMH seviyesinde önemli bir değişimin görülmediği vurgulanmaktadır (Cook ve ark. 2000, Hehenkamp ve ark. 2006, La Marca ve ark. 2006). Köpeklerde östrüs başında, metöstrüse ve anöstrüse kıyasla daha yüksek AMH seviyesinin görüldüğü (Walter ve ark. 2019), benzer şekilde ineklerde de östrüsü takip eden günlerde AMH seviyesinde bir azalma olduğu ifade edilmektedir (Monniaux ve ark. 2012). Buna karşın Souza ve ark. (2015), ineklerde AMH seviyesinin siklus boyunca değişmediğini bildirmektedir. Kedilerde yapılan çalışmalarda (Flock ve ark. 2022b, Gültiken ve ark. 2022) ise AMH seviyesinin anöstrüs ve interöstrüs dönemlerinde yüksek ancak östrüs döneminde düşük olduğu ifade edilmekte, proöstrüs ve östrüs dönemleri arasında ise herhangi bir fark olmadığı bildirilmektedir. Sunulan çalışmada seksüel siklusun dönemine göre AMH hormon seviyeleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilmedi ( $p>0.05$ ) (Çizelge 4.2). Ancak sayısal olarak en düşük AMH değeri östrüste tespit edildi. Anöstrüs döneminde ise östrüs döneminden daha yüksek olduğu görüldü. Elde edilen bulguların Flock ve ark. (2022b)'nin sonuçlarına benzer olduğu görülmektedir. Çalışmada en yüksek AMH değerlerinin diöstrüs dönemindeki kedilerde tespit edilmesinin, Gültiken ve ark. (2022)'nin belirttiği korpus luteumun da AMH üretme kapasitesine sahip olmasıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Ancak bu konu ile ilgili daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Vücut ağırlığı ile AMH seviyesi arasındaki ilişki ile ilgili çalışmalar birbirinden farklı sonuçlar ortaya koymaktadır. Moy ve ark. (2015) obezite ile serum AMH seviyesi arasında negatif bir ilişki olduğunu ifade etmektedirler. Ancak, vücut ağırlığı ile serum AMH seviyesi arasında herhangi bir ilişkinin tespit edilemediğini belirten çalışmalar da mevcuttur (Skalba ve ark. 2011, Sahmay ve ark. 2012). Çalışmamızda kedilerde serum AMH seviyesi ile vücut ağırlığı arasında istatistiksel bir ilişki belirlenemedi ( $p < 0.05$ ). Ancak 2-3 kg canlı ağırlığında olan kedilerde, >3 kg olanlara göre sayısal olarak daha yüksek AMH seviyesi tespit edildi (Çizelge 4.3). Diğer taraftan vücut ağırlığının AMH seviyesi üzerine etkisinin daha detaylı araştırmalar ile ortaya koyulması gerektiği düşünülmektedir.

Ovaryumdan salgılanan steroid hormonların negatif feedback mekanizması ile gonadotropin salınımını düzenlediği bildirilmektedir (Concannon 1993). Foliküler dönemde artan östrojen, hipofiz bezi üzerine negatif feedback mekanizması aracılığıyla GnRH reseptörlerinin GnRH'a olan duyarlılığını azaltarak FSH ve LH üretimini baskılar. Ayrıca, östradiol negatif feedback mekanizması ile GnRH salınımını direk olarak; gama aminobütirik asit (GABA) salınımını artırıp ve kisspeptin salınımını azaltarak GnRH sekresyonunu dolaylı yoldan azaltır (Pinilla ve ark. 2012). Köpek ve kedilerde ovaryohistektomi operasyonu sonrası gonadal steroidlerin sağlamış olduğu negatif feedback mekanizmasının ortadan kalkmasından dolayı gonadotropinlerin (FSH ve LH) seviyesinde artış şekillendiği ifade edilmektedir (Concannon ve ark. 1979, Reichler ve ark. 2004, Krecic ve ark. 2018, Aguiar ve ark. 2021). Kedilerde bu artışın operasyon sonrası 24. saatten itibaren görülebileceği ifade edilmektedir (Johnson ve Gay 1981a). Sunulan çalışmada elde edilen sonuçların Reichler ve ark. (2004) ve Aguiar ve ark. (2021) ile benzer olduğu, ovaryohistektomi sonrası FSH ve LH konsantrasyonlarında bir artış olduğu görülmektedir (Çizelge 4.6).

Kedilerde LH ölçümü ile gonadektomi durumunun belirlenebildiği ifade edilmektedir. Ticari olarak üretilen Witness LH test kiti ile LH ölçümü yapıldığında kısırlaştırılmış kedilerde testin pozitif sonuç verdiği bildirilmektedir. Fakat testin pozitif sonuç verebilmesi için test edilen örnekteki LH konsantrasyonu en az 1 ng/ml olması gerektiği bildirilmektedir (Krecic ve ark. 2018, Morrow ve ark. 2019). Witness LH testi ile kedilerde %91 sensitivite ve %92 spesifite ile gonadektomi durumunu tespit edilebileceği belirtilmektedir (Krecic ve ark. 2018). Bu çalışmada ovaryohistektomi operasyonu sonrası

LH konsantrasyonunun 10.günde ortalama  $0.435 \pm 0.086$  ng/ml olduğu tespit edildi. Ancak çalışmada 1 kedide operasyon sonrası 10.günde LH seviyesinin 1.27 ng/ml olduğu görüldü. Bu nedenle LH ölçümü ile ovaryohistektomi operasyonu sonrası 10.günde gonadektomi durumunun belirlenemeyeceği, ancak bireysel farklılıklara bağlı olarak LH konsantrasyonunun yüksek olabileceğine dikkat edilmesi gerektiği düşünüldü.

Yirmi kedi üzerinde yapılan bu çalışmada LH; operasyon öncesi alınan kan örneklerinden 3'ünde (3/20), postoperatif 3. günde alınan kan örneklerinden 7'sinde (7/20) ve 10. günde alınan kan örneklerinden ise 17'sinde (17/20) tespit edildi. Kedilerde LH'nın tespit edilememesi, kedilerin provoke ovulatr hayvanlar olması, LH pikinin çiftleşmeden sonra görülmeye başlaması, seksüel siklusun dönemi ve örnekleme sıklığı gibi nedenlerle ilişkili olabildiği belirtilmektedir (Concannon ve ark. 1980, Johnson ve Gay 1981a, Johnson ve Gay 1981b). Kedilerde ovulasyon ve LH pikinin şekillenmesi için çiftleşme olması gerekmektedir. Östrüs döneminde çiftleşme anına kadar LH bazal seviyede ( $1.0 \pm 0.8$  ng/ml) bulunmakta, çiftleşen kedilerde ise tek çiftleşme sonrası 5 dk içerisinde artmaya başlayarak 20 dakika sonunda maksimum seviyeye çıkmaktadır. Çiftleşmenin LH piki ve miktarı üzerine olan uyarıcı etkisi çiftleşme başlangıcından 1.5 saat sonra sona ermektedir. Bu nedenle kedilerde LH ölçümünü yapabilmek için 6-10 dk aralıklarla örnekleme yapılması gerekmektedir (Concannon ve ark. 1980, Johnson ve Gay 1981b, Lawler ve ark. 1993).

Kedi ve köpeklerde ovarektomi sonrası kan östrojen ve progesteron seviyesinde bir azalmanın görüldüğü bildirilmektedir (Martin ve ark. 1987, Omeran ve ark. 2014, Pech ve ark. 2019, Torabi Asl ve ark. 2022). Bu çalışmada ovaryohistektomi operasyonu sonrası serum östrojen seviyelerinde dalgalı bir seyir belirlendi. Operasyon sonrası 3. günde bir azalma tespit edilirken, 10. günde ise operasyon öncesi seviyelerine yaklaştığı görüldü. Ancak östrojenin tam olarak elimine olmadığı tespit edildi. Benzer bir duruma köpeklerde ovaryohistektomi operasyonu sonrası da rastlanıldığı belirtilmektedir (Pech ve ark. 2019). Bu durumun (Nakashima ve ark. 2013) ekstragonadal östrojen üretimi ve kedi mamalarında bulunan fitoöstrojenik gıdaların alımına bağlı olarak şekillenebileceği düşünülmektedir. Progesteron değerleri bakımından ise operasyon sonrasında istatistiki olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ( $p < 0.05$ ). Progesteron hormonu başlıca ovaryumlardan salınan steroid yapıda bir hormon olarak ifade edilmekte ve elde edilen bulguların Omeran ve ark. (2014)'ın bulgularına benzer olduğu görülmektedir.

Postoperatif 3.günde AMH ile LH seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Çizelge 4.8). Kedilerde ovaryohistektomi sonrası AMH seviyesinde bir azalma tespit edilmektedir (Pir Yağcı ve ark. 2016a). Ovaryohistektomi operasyonu sonrası LH seviyelerinin ise genellikle ilk bir hafta içerisinde artış göstererek 30.gün içerisinde pik yaptığı görülmektedir. Luteinizan hormon seviyeleri ovaryohistektomi sonrası 30.günden sonra azalmaya geçerek 120.günde ovaryohistektomi öncesi seviyelerine düşmektedir (Bateman ve ark. 2017). Georgopoulos ve ark. (2010), AMH ile LH seviyesi arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ifade etmektedirler.

Yapılan çalışmalarda (De Vet ve ark. 2002, Van Helden ve ark. 2019, Ferre-Dolcet ve ark. 2022) FSH ve AMH seviyeleri arasında negatif bir korelasyonun olduğu bildirilmektedir. Singer ve ark. (2009) AMH ve FSH arasındaki korelasyonun ovaryum rezervlerinin tespitinde kullanılabileceğini ifade etmektedirler. Sunulan çalışmada postoperatif 10.günde AMH ve FSH seviyeleri arasında negatif bir korelasyon dikkati çekti (Çizelge 4.9). Elde edilen bulgular kedilerde FSH'nın da gonadektomi durumunun tespitinde kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Yapılan çalışmada AMH immunpozitifliği primordiyal foliküllerde negatif iken, primer foliküllerde hafif derecede, sekonder foliküllerdeki granüloza hücrelerinde orta derecede, antral foliküllerin mural granüloza hücrelerinde, kumulus ooforus ve corona radiata hücrelerinde şiddetli derecede görülmektedir (Çizelge 4.10). Antimüllerian Hormon'un erken foliküler gelişim döneminde etkin olduğu bilinmektedir (Durlinger ve ark. 2002). İnsanlarda ve ineklerde primordiyal foliküllerde AMH üretimi görülmezken; küçük sekonder, preantral ve küçük antral foliküllerde daha yüksek seviyede AMH üretiminin görüldüğü bildirilmektedir (Weenen ve ark. 2004, Monniaux ve ark. 2012). Keçilerde ise küçük foliküllerde AMH üretimi yüksek seviyede iken büyük foliküllerde daha az üretildiği belirtilmektedir (Monniaux ve ark. 2011). Çalışmada elde edilen sonuçların araştırmacıların (Durlinger ve ark. 2002, Weenen ve ark. 2004, Monniaux ve ark. 2011, Monniaux ve ark. 2012) belirttiği gibi rat, keçi, inek ve insana benzer olduğu görülmektedir.

Yapılan çalışmalarda (Durlinger ve ark. 2002, Weenen ve ark. 2004, Rice ve ark. 2007, Almedia ve ark. 2018) AMH'nın ilk olarak aktive olmuş primordiyal foliküllerdeki granüloza hücrelerinden üretildiği bildirilmektedir. Primordiyal folikül aktivasyonu, yassı

olan pregranüloza hücrelerin küboidal forma dönüşmesi olarak ifade edilmektedir (Cooper 2016, Gershon ve Dekel 2020). Bu süreçte primordiyal foliküllerdeki granüloza hücrelerinde bulunan SCF ve FGF-2 gibi faktörlerin etkili olduğu, bu peptitlerin oositlerin gelişimini, primordiyal foliküllerin primer foliküllere dönüşümünü ve tekal hücrelerin proliferasyonunu uyardığı belirtilmektedir (Nilsson ve Skinner 2002, Nilsson ve Skinner 2003, Nilsson ve Skinner 2004). Ayrıca primordiyal folikülleri çevreleyen bazı tekal hücre prekürsörlerinden üretilen FGF-7, pregranüloza hücreleri üzerine SCF upregülasyonu yapacak şekilde etki göstererek, pretekal ve tekal hücrelerinin proliferasyonuna ve oosit gelişimine olumlu etki yapmaktadırlar (Kezele ve ark. 2005). Primordiyal foliküllerin primer foliküle dönüşümünü sağlayan bir diğer faktör olan FGF-2 ise primordiyal foliküllerin oositlerinden salınarak, SCF upregülasyonuna yol açar ve primordiyal foliküllerin primer foliküllere dönüşümünde önemli rol oynamaktadır (Nilsson ve Skinner 2004). Kedilerde primordiyal foliküler aktivasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda, SCF ve FGF-2'nin primordiyal foliküllerin aktivasyonunda ve sekonder folikül evresine geçişinde görevli olduğu bildirilmektedir (Fujihara ve ark. 2014, Thuwanut ve ark. 2017, Müller ve ark. 2022). Prenatal-antral foliküllerden üretilen AMH'nın primordiyal folikül aktivasyonunu inhibe ettiği ve primordiyal foliküllerden AMH sentezini engellendiği belirtilmektedir (Durlinger ve ark. 1999, Durlinger ve ark. 2002, Knight ve Glister 2006). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda insan granüloza hücrelerinde AMH'nın SCF inhibisyonuna yol açtığı ifade edilmektedir (Hu ve ark. 2014). Dolayısıyla primordiyal foliküllerde AMH üretiminin görülmemesinin (Şekil 4.7 ve Çizelge 4.10) gelişen foliküllerden üretilen AMH'nın primordiyal folikül aktivasyonunu SCF aracılığıyla baskılamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Foliküllerde AMH üretimi oositler tarafından düzenlenmektedir. Oosit ve tekal hücre kökenli BMP'lerin folikülogenezis boyunca küçük antral foliküllerde AMH ifadesini arttırdığı ve AMH üretiminin bölgeselleşmesinde önemli rol oynadığı varsayılmaktadır (Salmon ve ark. 2004, Monniaux ve ark. 2012). Kemik morfogenetik protein-4 (BMP-4), BMP-6 ve BMP-15'in keçi, insan ve ineklerde AMH mRNA ifadesini arttırdığı ifade edilmektedir (McNatty ve ark. 2005, Convissar ve ark. 2017, Zhao ve ark. 2018). Kedilerde primordiyal foliküllerden sekonder foliküllere dönüşüm sürecinde BMP-4 ve BMP-15 mRNA ifadesinin yükseldiği ifade edilmektedir (Kehoe ve ark. 2021). Ancak kedilerde AMH üretimini düzenleyen intraovaryan faktörler ile ilgili henüz yeterince literatür bilgisi mevcut değildir.

AMH immunreaksiyonu antral foliküllerde antruma bakan mural granüloza hücrelerinde, kumulus ooforusunda görülmekte iken tekal hücrelerde tespit edilmedi (Şekil 4.10). İneklerde ve koyunlarda yapılan çalışmalarda, kumulus ooforusunda AMH üretimi görüldüğü bildirilmektedir. Ancak AMH üretiminin ineklerde tekal hücrelere yakın granüloza hücrelerinde görülürken, koyunlarda antruma bakan granüloza hücrelerinde AMH üretimi yapıldığı vurgulanmaktadır (Bezard ve ark. 1987, Rico ve ark. 2011). Sunulan çalışmada elde edilen sonuçların koyunlarda yapılan çalışmalara benzer olduğu görülmektedir (Bezard ve ark. 1987, Baarends ve ark. 1995).

Foliküllerin seçim aşamasında foliküllerin gelişmelerinin devam etmesi için belli miktarda bir FSH uyarımına ihtiyacı vardır. Foliküllerin gelişmesi için ihtiyaç duyduğu bu FSH uyarımı herbir folikül için farklı seviyededir. Antimüllerian hormonun başlıca FSH duyarlı folikülleri etkilemesi, AMH üreten foliküllerin ya gelişmeye devam etmesine ya da atrezi olmasına yol açmaktadır. Özellikle düşük seviyede AMH üreten foliküllerin, FSH aracılı gelişime daha yatkın olduğu bildirilmektedir (Baarends ve ark. 1995). Çalışmamızda antral foliküllerin kumulus ooforus ve corona radiata hücrelerinde şiddetli bir AMH immunpozitiflik dikkati çekti (Şekil 4.9). Bu bakımdan AMH'nın kedilerde dominant foliküllerin seçiminde önemli bir rol oynayabileceği ve fazla miktarda AMH üretimi yapan preovulator foliküllerin ovule olma şansının daha fazla olabileceği kanısına varıldı. Ancak bu konu ile ilgili daha fazla çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Rico ve ark. (2011) ineklerde atretik foliküllerde AMH üretiminin sadece oositi çevreleyen kumulus hücrelerinde görüldüğünü ifade etmektedir. Monniaux ve ark. (2012) gelişen foliküllerdeki oosit ve tekal hücre kaynaklı büyüme faktörlerinin AMH üretimini ve nerelerde yoğunlaşacağını kontrol ettiğini vurgulamaktadır. Çalışmada atretik foliküllerde hafif derecede bir immunpozitiflik tespit edildi (Şekil 4.11). İnsan, keçi ve domuzlarda yapılan çalışmalarda ovaryum foliküllerinde tekal hücrelerin AMH üretimi yapabildiği vurgulanmış, ancak tekal hücrelerinin nasıl AMH ürettiği ile ilgili henüz yeterince çalışma mevcut değildir (Stubbs ve ark. 2005, Rocha ve ark. 2016, Almeida ve ark. 2018).

## 6. SONUÇ

Kedilerde ovaryohistektomi sonrası tespit edilen serum AMH seviyesindeki azalma AMH'nın başlıca ovaryumlardan üretilen bir hormon olduğunu göstermektedir. Serum AMH seviyesinin yaş, vücut ağırlığı ve seksüel siklusun dönemlerinden etkilenmediği görüldü. Antimüllerian hormon ölçümü ile gonadektomi durumunun tespit edilebileceği görüldü.

Serum östradiol 17- $\beta$  seviyesinin östrüs evresinde arttığı, luteal evrede de görülen yüksek östradiol 17- $\beta$  seviyesi nedeniyle bu evrede de foliküler aktivitenin olabileceğini düşündürdü. Foliküler dalga dinamiğinin kedilerde ileri çalışmalarla incelenmesi gerektiği kanısına varıldı. Anöstrüs evresinde belirlenen östradiol 17- $\beta$  seviyesinin kedilerde bu dönemde de foliküler gelişimin olduğunu ancak bu gelişim düzeylerinin seksüel aktivite için yeterli olmadığını düşündürmektedir. Serum progesteron düzeylerinin östrüs ve anöstrüs evrelerinde düşükken diöstrüs evresinde yüksek olduğu görüldü. Sonuçlar kedilerde köpeklerden farklı olarak foliküler lüteinizasyon olgusunun olmadığını destekledi. Östrüs siklusunun döneminin belirlenmesinde östradiol 17- $\beta$  ve progesteron seviyesinin birlikte ölçülmesi gerektiği kanısına varıldı.

Ovaryohistektomi sonrası serum E2 seviyesinde dalgalanma görülebileceği dolayısıyla E2 seviyesinin tespiti ile gonadektomi durumunun yapılamayacağı düşünüldü. Progesteron seviyesinin ise bazal seviyelerin altında olduğu ve anöstrüs döneminde görülen seviyelere benzer olmasından dolayı gonadektomi durumunun belirlenmesinde kullanılamayacağı kanısına varıldı.

Operasyon sonrası FSH ve LH konsantrasyonlarında E2'nin negatif feedback etkisinin ortadan kalkmasına bağlı olarak arttığı, fakat bu artışın ovaryohistektomi sonrası erken dönemde gonadektomi durumunun belirlenmesinde yanıltıcı olabileceği ve/veya yetersiz kaldığı sonucuna varıldı.

Kedilerde AMH üretiminin ilk olarak primer foliküllerde şekillendiği ve antral folikül gelişimine kadar AMH'nın üretilmeye devam ettiği görüldü. Korpus luteumda AMH üretiminin olmadığı ancak atretik foliküllerde de az da olsa AMH üretiminin gerçekleştiği dikkati çekti. Antral foliküllerde kumulus ooforus ve corono radiatada görülen AMH immunpozitifliği, AMH'nın dominant folikül seçiliminde de etkili olabileceğini

düşündürdü. Elde edilen verilerin AMH'nın folikülogenezisteki rolünün ortaya konmasında katkı sağlayacağı kanısına varıldı.



## 7. KAYNAKLAR

1. **Aerts JMJ, Bols PEJ.** Ovarian follicular dynamics. A review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. *Reprod Domes Anim*, **2010**, 45(1), 180-187.
2. **Aguiar J, Crossley VJ, Davison LJ, Fowkes RC, Syme HM.** Long-term effect of neutering on plasma luteinising hormone concentration in cats. *J Fel Med Surg*, **2021**, 23(10), 867-874.
3. **Alaçam E.** Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Üremenin denetlenmesi. Editör: Alaçam E. Medisan Yayınevi, Ankara, **2007**, 71-80.
4. **Alkan Karakaş K, Ceylan A, Alkan H, Özen D, Bayraktaroğlu AG ve ark.** Immunohistochemical and qPCR determination of the expression and serum level of antimüllerian hormone in pre-pubertal, intact and ovarian remnant syndrome detected bitches. *Reprod Domest Anim*, **2019**, 54, 979-986.
5. **Alkan Karakaş K, Alkan H, Kaymaz M.** The effect of anti-müllerian hormone and progesterone concentrations on superovulation response and embryo yield in goats. *Theriogenology*, **2020**, 143, 1-9.
6. **Almeida FR, Costermans NG, Soede NM, Bunschoten A, Keijer J ve ark.** Presence of anti-Müllerian hormone (AMH) during follicular development in the porcine ovary. *PLoS One*, **2018**, 13(7), e0197894.
7. **Annunziata M, Granata R, Ghigo E.** The IGF system. *Acta Diabetol*, **2011**, 48(1),1-9.
8. **Arai KY, Ohshima KI, Watanabe G, Arai K, Uehara K ve ark.** Dynamics of messenger RNAs encoding inhibin/activin subunits and follistatin in the ovary during the rat estrous cycle. *Biol Reprod*, **2002**, 66(4), 1119-1126.
9. **Arai KY, Kishi H, Onodera S, Jin W, Watanabe G ve ark.** Cyclic changes in messenger RNAs encoding inhibin/activin subunits in the ovary of the golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J Endocrinol*, **2005**, 185(3), 561-575.
10. **Arthur GA, Noakes DE, Pearson H, Parkinson TJ.** *Endogenous and Exogenous Control of Ovarian Cyclicity*. In: Veterinary Reproduction and Obstetrics. 7th Ed., Saunders Company, London, **1996**, 36.
11. **Axnér E, Gustavsson T, Holst BS.** Estradiol measurement after GnRH-stimulation as a method to diagnose the presence of ovaries in the female domestic cat. *Theriogenology*, **2008**, 70(2), 186-191.
12. **Axnér E, Holst BS.** Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology*, **2015**, 83(5), 817-821.
13. **Baarends WM, Uilenbroek JT, Kramer PIET, Hoogerbrugge JW, Van Leeuwen EC ve ark.** Anti-müllerian hormone and anti-müllerian hormone type II receptor messenger ribonucleic acid expression in rat ovaries during postnatal development, the estrous cycle, and gonadotropin-induced follicle growth. *Endocrinology*, **1995**, 136(11), 4951-4962.
14. **Ball BA, Almeida J, Conley AJ.** Determination of serum anti-Müllerian hormone concentrations for the diagnosis of granulosa cell tumours in mares. *Equine Vet J*, **2012**, 45(2), 199–203. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00594.x>
15. **Ball BA, Ali HES, Scoggin KE, Riddle WT, Schnobrich M ve ark.** Relationship between anti-Müllerian hormone and fertility in the mare. *Theriogenology*, **2019**, 125, 335-341.
16. **Bateman HL, Vansandt LM, Newsom J, Swanson WF.** Temporal changes in serum luteinizing hormone following ovariectomy and gonadotropin-releasing hormone vaccination in domestic cats. *Reprod Domest Anim*, **2017**, 52, 332-335.
17. **Bezard J, Vigier B, Tran D, Mauleon P, Josso N.** Immunocytochemical study of anti-Müllerian hormone in sheep ovarian follicles during fetal and post-natal development. *Reproduction*, **1987**, 80(2), 509-516.
18. **Binder C, Aurich C, Reifinger M, Aurich J.** Spontaneous ovulation in cats—Uterine findings and correlations with animal weight and age. *Anim Reprod Science*, **2019**, 209, 106167.
19. **Boonstra J, Rijken P, Humbel B, Cremers F, Verkleij A ve ark.** The epidermal growth factor. *Cell Biol Int*, **1995**, 19(5), 413-430.
20. **Bowen-Shauver JM, Telleria CM.** Luteal regression: a redefinition of the terms. *Reprod Biol Endocrinol*, **2000**, 1(1), 1-3.
21. **Braun BC, Jewgenow K.** Expression of steroidogenic enzymes and steroid receptors in foetal gonads of domestic cat—sex similarities and differences. *Reprod Domest Anim*, **2017**, 52, 130-136.

22. **Bristol-Gould SK, Woodruff TK.** Follicle-restricted compartmentalization of transforming growth factor  $\beta$  superfamily ligands in the feline ovary. *Biol Reprod*, **2004**, 70(3), 846-859.
23. **Bristol-Gould S, Woodruff TK.** Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). *Theriogenology*, **2006**, 66(1), 5-13.
24. **Buijtel JJCWM, Beijerink NJ, Kooistra HS, Dieleman SJ, Okkens AC.** Effects of gonadotrophin releasing hormone administration on the pituitary-ovarian axis in anoestrous vs ovariectomized bitches. *Reprod Domest Anim*, **2006**, 41(6), 555-561.
25. **Byskov AG.** The role of the rete ovarii in meiosis and follicleformation in the cat, mink and ferret. *J Reprod Fertil*, **1975**, 45, 201–209.
26. **Cain JL.** Drugs used to treat reproductive disorders. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, **1998**, 28(2), 395-410.
27. **Carrijo Jr OA, Marinho APS, Campos AA, Amorim CA, Bao SN ve ark.** Morphometry, estimation and ultrastructure of ovarian preantral follicle population in queens. *Cells Tissues Organs*, **2010**, 191(2), 152-160.
28. **Cate RL, Mattaliano RJ, Hession C, Tizard R, Farber NM ve ark.** Isolation of the bovine and human genes for Müllerian inhibiting substance and expression of the human gene in animal cells. *Cell*, **1986**, 45(5), 685-698.
29. **Chansaenroj A, Songsasen N, Chatdarong K.** Equine chorionic gonadotropin induces in vitro follicular growth from the multilayered secondary developmental stage in cats. *Theriogenology*, **2019**, 123,116-122.
30. **Citri A, Yarden Y.** EGF–ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **2006**, 7(7), 505-516.
31. **Claes A, Ball BA, Almeida J, Corbin CJ, Conley AJ.** Serum anti-Müllerian hormone concentrations in stallions: developmental changes, seasonal variation, and differences between intact stallions, cryptorchid stallions, and geldings. *Theriogenology*, **2013**, 79(9), 1229-1235.
32. **Colombo M, Alkali IM, Prochowska S, Luvoni GC.** Fighting like cats and dogs: Challenges in domestic carnivore oocyte development and promises of innovative culture systems. *Animals*, **2021**, 11(7), 2135.
33. **Comizzoli P, Wildt DE, Pukazhenthil BS.** Impact of anisotonic conditions on structural and functional integrity of cumulus–oocyte complexes at the germinal vesicle stage in the domestic cat. *Mol Reprod Dev*, **2008**, 75(2), 345-354.
34. **Concannon PW, Weigand N, Wilson S, Hansel W.** Sexual behavior in ovariectomized bitches in response to estrogen and progesterone treatments. *Biol Reprod*, **1979**, 20(4),799-809.
35. **Concannon P, Hodgson B, Lein D.** Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations. *Biology of Reproduction*, **1980**, 23(1), 111-117.
36. **Concannon PW.** *Feline reproduction*. In: Current Veterinary Therapy VIII Small Animal Practice. 8<sup>th</sup> Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, **1983**, 932– 936.
37. **Concannon PW.** Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs. *J Reprod Fertil*. Supplement, **1993**, 1(47), 3-27.
38. **Convissar S, Armouti M, Fierro MA, Winston NJ, Scoccia H ve ark.** Regulation of AMH by oocyte-specific growth factors in human primary cumulus cells. *Reproduction*, **2017**,154(6), 745-753.
39. **Cook CL, Siow Y, Taylor S, Fallat ME.** Serum müllerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertil Steril*, **2000**, 73(4), 859-861.
40. **Cooper LL.** Activation and survival of ovarian follicles in vitro: The effects of bone morphogenetic proteins (BMPs) and/or cryopreservation on bovine and feline ovarian tissue. Cornell University. **2016**.
41. **Crisosto N, Petermann T, Greiner M, Maliqueo M, Moreno M ve ark.** Testosterone-induced downregulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells from small bovine follicles. *Endocrine*, **2009**, 36(2), 339-345.
42. **Da Silva TF, Da Silva LD, Uchoa DC, Monteiro CL, De Aguiar Thomaz L.** Sexual characteristics of domestic queens kept in a natural equatorial photoperiod. *Theriogenology*, **2006**, 66, 1476–1481.
43. **De Vet A, Laven JS, de Jong FH, Themmen AP ve ark.** Antimüllerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil and Steril*, **2002**, 77(2), 357-362.
44. **Demir P, Koç AU.** Pet hayvan (kedi-köpek) sahiplerinin veteriner kliniklerine ilişkin beklentileri. *İstanbul Üniv Vet Fak Dergisi*, **2014**, 40(2), 168-175.
45. **Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N ve ark.** The Physiology and Clinical Utility of Anti-Müllerian Hormone in Women. *Hum Reprod Update*, **2014**, 20, 370–85.

46. **Dewailly D, Robin G, Peigne M, Decanter C, Pigny P ve ark.** Interactions between androgens, FSH, anti-Müllerian hormone and estradiol during folliculogenesis in the human normal and polycystic ovary. *Human Reprod Update*, **2016**, 22(6), 709-724.
47. **Di Clemente N, Wilson C, Faure E, Boussin L, Carmillo P ve ark.** Cloning, expression, and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. *Mol Endocrinol*, **1994**, 1;8(8),1006-20.
48. **Di Clemente N, Racine C, Pierre A, Taieb J.** Anti-Müllerian hormone in female reproduction. *Endocrine reviews*, **2021**, 42(6), 753-782.
49. **Diez-Bru N, Real IG, Martinez EM, Rollan E, Mayenco A, Llorens P:** Ultrasonographic appearance of ovarian in 10 dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, **1998**, 39, 226-233.
50. **Driscoll CA, Menotti-Raymond M, Roca AL, Hupe K, Johnson WE ve ark.** The Near Eastern origin of cat domestication. *Science*, **2007**, 317(5837), 519-523.
51. **Durlinger AL, Kramer P, Karels B, De Jong FH, Uilenbroek JTT. ve ark.** Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*, **1999**,140(12), 5789-5796.
52. **Durlinger ALL, Gruijters MJG, Kramer P, Karels B, Kumar TR ve ark.** Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinol*, **2001**,142, 4891–4899.
53. **Durlinger ALL, Visser JA, Themmen APN.** Regulation of ovarian function: The role of anti-Müllerian hormone. *Reproduction*, **2002**,124, 601–609.
54. **El-Sheikh AH, Kitahara G, Nibe K, Yamaguchi R, Horii Y ve ark.** Plasma anti-Müllerian hormone as a biomarker for bovine granulosa-theca cell tumors: Comparison with immuno- reactive inhibin and ovarian steroid concentrations. *Theriogenology*, **2013**, 80, 940–949.
55. **Eppig JJ.** Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, **2001**, 122(6), 829-838.
56. **Evkuran Dal G, Alçığır E, Polat İM, Atalay Vural S, Canatan HE, Vural MR, Küplülü Ş.** Granulosa theca cell tumor in an Arabian mare: Are immunohistochemically loss of GDF-9 and BMP-6 proteins associated with high GATA-4, inhibin- $\alpha$ , AMH expressions? *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, **2013**,19, 237-242.
57. **Fang Y, Lu X, Liu L, Lin X, Sun M ve ark.** Vascular endothelial growth factor induces anti-Müllerian hormone receptor 2 overexpression in ovarian granulosa cells of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection patients. *Mol Med Rep*, **2016**, 13(6), 5157-5162.
58. **Feldman EC, Nelson RW.** *Feline reproduction*. In: Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 2<sup>nd</sup> Ed., WB Saunders Co, Philadelphia, **1996**, 741– 767.
59. **Feldman EC, Nelson RW.** *Feline reproduction*. In Feldman EC, Nelson RW, editors: Canine and feline endocrinology and reproduction, ed 3, St Louis, **2004**, Saunders, p 1016.
60. **Ferré-Dolcet L, Ferro S, Contiero B, Fontaine C, Badon T ve ark.** Clinical use of Anti-Müllerian Hormone to monitor resumption of ovarian activity following removal of a 4.7 mg deslorelin implant in queens. *Vet Res Commun*, **2022**,1-8.
61. **Field SL, Dasgupta T, Cummings M, Orsi NM.** Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation. *Mol Reprod Dev*, **2014**, 81(4), 284-314.
62. **Fleming R, Fairbairn C, Blaney C, Lucas D, Gaudoin M.** Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes. *Reprod Biomed Online*, **2013**, 26, 130-132.
63. **Flock U, Fischer S, Weeger J, Reese S, Walter B.** Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool to identify queens with ovarian remnant syndrome. *J Fel Med Surg*, **2022a**,1098612X221099195.
64. **Flock U, Reese S, Otzdorff C, Klein R, Walter B.** Anti-Müllerian hormone concentrations in queens throughout the estrous cycle. *Domest Anim Endocrinol*, **2022b**, 81, 106749.
65. **Fujihara M, Comizzoli P, Keefer CL, Wildt DE, Songsasen N.** Epidermal growth factor (EGF) sustains in vitro primordial follicle viability by enhancing stromal cell proliferation via MAPK and PI3K pathways in the prepubertal, but not adult, cat ovary. *Biol Reprod*, **2014**, 90(4), 86-1.
66. **Ganguly A, Ganguly I, Meur SK.** Multiple molecular forms of inhibin in buffalo (*Bubalus bubalis*) ovarian follicular fluid. *Res Vet Sci*, **2010**, 89(1), 14-19.
67. **Georgopoulos NA, Saltamavros AD, Decavalas G, Piouka A, Katsikis I ve ark.** Serum AMH, FSH, and LH levels in PCOS. *Fertil Steril*, **2010**, 93(3), e13.
68. **Gershon E, Dekel N.** Newly identified regulators of ovarian folliculogenesis and ovulation. *Int J Mol Sci*, **2020**, 21(12), 4565.
69. **Giudice LC.** Insulin-like growth factor family in Graafian follicle development and function. *Gynecol Obstet Investig Supp*, **2001**, 1, 26-29.

70. **Glister C, Hatzirodos N, Hummitzsch K, Knight PG, Rodgers RJ.** The global effect of follicle-stimulating hormone and tumour necrosis factor  $\alpha$  on gene expression in cultured bovine ovarian granulosa cells. *BMC genomics*, **2014**, 15(1), 1-15.
71. **Goodrowe KL, Howard JG, Schmidt PM, Wildt DE.** Reproductive biology of the domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and in-vitro fertilization. *J Reprod Infertil, Supplement*, **1989**, 39, 73-90.
72. **Gosden RG, Telfer E.** Numbers of follicles and oocytes in mammalian ovaries and their allometric relationships. *J Zool*, **1987**, 211(1), 169-175.
73. **Gougeon A.** Human ovarian follicular development: from activation of resting follicles to preovulatory maturation. *Ann Endocrinol*, **2010**, 71, 132-143.
74. **Göritz F, Jewgenow K, Meyer HHD.** Epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor in the ovary of the domestic cat (*Felis catus*). *Reproduction*, **1996**, 106(1), 117-124.
75. **Griffin B.** Prolific cats: the estrous cycle. *Compend Contin Educ Pract Vet*, **2001**, 23: 1049–1056.
76. **Grossman MP, Nakajima ST, Fallat ME, Siow Y.** Mullerian-inhibiting substance inhibits cytochrome P450 aromatase activity in human granulosa lutein cell culture. *Fert Steril*, **2008**, 89:1364-1370.
77. **Grynberg M, Pierre A, Rey R, Leclerc A, Arouche N ve ark.** Differential regulation of ovarian anti-müllerian hormone (AMH) by estradiol through  $\alpha$ - and  $\beta$ -estrogen receptors. *J Clin Endocr Metab*, **2012**, 97(9), E1649-E1657.
78. **Gudermuth DF, Newton L, Daels P, Concannon P.** Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. *J Reprod Fertil Suppl*, **1997**, 51, 177–184.
79. **Gültiken N, Yarim M, Aslan S, Gürler H, Yarim GF ve ark.** Expression of Anti-Müllerian Hormone and Its Type 2 Receptor in the Ovary of Pregnant and Cyclic Domestic Cats. *Animals*, **2022**, 12(7), 877.
80. **Hafez ESE.** *Folliculogenesis, egg maturation and ovulation.* In: Reproduction in farm animals. 1<sup>st</sup> Ed., Lea and Febiger, Philadelphia, **1993**, 114-143.
81. **Hagen CP, Mouritsen A, Mieritz MG, Tinggaard J, Wohlfart-Veje C ve ark.** Circulating AMH reflects ovarian morphology by Magnetic Resonance Imaging and 3D-ultrasound in 121 healthy girls. *J Clin Endocr*, **2014**, 100, 880–890.
82. **Hamouzova P, Cizek P, Novotny R, Bartoskova A, Tichy F.** Distribution of mast cells in the feline ovary in various phases of the oestrous cycle. *Reprod Domestic Animals*, **2017**, 52(3), 483-486.
83. **Han X, McShane M, Sahertian R, White C, Ledger W.** Pre-Mixing Serum Samples With Assay Buffer is a Prerequisite for Reproducible Anti-Müllerian Hormone Measurement Using the Beckman Coulter Gen II Assay. *Hum Reprod*, **2014**, 29:1042–8.
84. **Heaps LA, Scudder CJ, Lipscomb VJ, Steinbach SM, Priestnall SL ve ark.** Serum anti-Müllerian hormone concentrations before and after treatment of an ovarian granulosa cell tumour in a cat. *J Felin Med Surg Open Rep*, **2017**, 3(2), 2055116917722701.
85. **Hehenkamp WJ, Looman CW, Themmen AP, De Jong FH, Te Velde ER ve ark.** Anti-Müllerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab*, **2006**, 91(10), 4057-4063.
86. **Hillier SG.** Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Mol Cell Endocrinol*, **2001**, 179(1-2), 39-46.
87. **Hollinshead FK, Walker C, Hanlon DW.** Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reprod Domest Anim*, **2017**, 52, 35-40.
88. **Hossner KL, McCusker RH, Dodson MV.** Insulin-like growth factors and their binding proteins in domestic animals. *Anim Sci*, **1997**, 64(1), 1-15.
89. **Hsueh AJ, Kawamura K, Cheng Y, Fauser BC.** Intraovarian control of early folliculogenesis. *Endocr Rev*, **2015**, 36(1), 1-24.
90. **Hu R, Wang FM, Yu L, Luo Y, Wu X ve ark.** Antimüllerian hormone regulates stem cell factor expression in human granulosa cells. *Fertil Steril*, **2014**, 102(6), 1742-1750.
91. **Hussein T, Froiland D, Amato F, Thompson J, Gilchrist R.** Oocytes prevent cumulus cell apoptosis by maintaining a morphogenic paracrine gradient of bone morphogenetic proteins. *J Cell Sci*, **2005**, 118, 5257–5268.
92. **Jewgenow K, Pitra C.** Hormone-controlled culture of secondary follicles of domestic cats. *Theriogenology*, **1993**, 39:527e35.
93. **Jewgenow K, Göritz F.** The recovery of preantral follicles from ovaries of domestic cats and their characterisation before and after culture. *Anim Reprod Sci*, **1995**, 39(4), 285-297.

94. **Jewgenow K, Fickel J.** Sequential expression of zona pellucida protein genes during the oogenesis of domestic cats. *Biol Reprod*, **1999**, 1;60(2):522-6.
95. **Jewgenow K, Paris MC.** Preservation of female germ cells from ovaries of cat species. *Theriogenology*, **2006**, 66(1), 93-100.
96. **Johnson LM, Gay VL.** Luteinizing hormone in the cat. I. Tonic secretion. *Endocrinology*, **1981b**, 109(1), 240-246.
97. **Johnson LM, Gay VL.** Luteinizing hormone in the cat. II. Mating-induced secretion. *Endocrinology*, **1981a**, 109(1), 247-252.
98. **Johnston S, Root Kustritz M, Olson P.** *Feline pregnancy*. In: Canine and Feline Theriogenology. 1<sup>st</sup> Ed., Saunders, Philadelphia, **2001**, 414.
99. **Josso N, di Clemente N.** Transduction pathway of anti-Müllerian hormone, a sex-specific member of the TGF- $\beta$  family. *Trends Endocrinol Metab*, **2003**, 14(2), 91-97.
100. **Jost, A.** Problems of fetal endocrinology: the gonadal and hypophyseal hormones. *Recent Progr Hormon Res*, **1953**, 8, 379-413.
101. **Jost A, Vigier B, Prepin J, Perchellet JP.** Studies on sex differentiation in mammals. Proceedings of the 1972 Laurentian Hormone Conference. Quebec, Canada, **1973**. 1-41.
102. **Kaivo-Oja N, Mottershead DG, Mazerbourg S, Myllymaa S, Duprat S ve ark.** Adenoviral gene transfer allows Smad-responsive gene promoter analyses and delineation of type I receptor usage of transforming growth factor- $\beta$  family ligands in cultured human granulosa luteal cells. *J Clin Endocrinol Metab*, **2005**, 90(1), 271-278.
103. **Kawai M, Rosen CJ.** The IGF-I regulatory system and its impact on skeletal and energy homeostasis. *J Cell Biochem*, **2010**, 111(1), 14-19.
104. **Kaya H, Bektaş M.** Çalışan bireylerin evcil hayvanlara bağlanma nedenlerine ilişkin nitel bir çalışma. *Mediterr J Soc Sci*, **2019**, 9(2), 401-417.
105. **Kehoe S, Jewgenow K, Johnston PR, Mbedi S, Braun BC.** Signalling pathways and mechanistic cues highlighted by transcriptomic analysis of primordial, primary, and secondary ovarian follicles in domestic cat. *Sci Rep*, **2021**, 11(1), 1-17.
106. **Kehoe S, Jewgenow K, Johnston PR, Braun BC.** Early preantral follicles of the domestic cat express gonadotropin and sex steroid signaling potential. *Biol Rep*, **2022**, 106(1), 95-107.
107. **Kezele P, Nilsson EE, Skinner MK.** Keratinocyte growth factor acts as a mesenchymal factor that promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Biol Reprod*, **2005**, 73(5), 967-973.
108. **Kitiyant Y, Saikhun J, Pavasuthipaisit K.** Somatic cell nuclear transfer in domestic cat oocytes treated with IGF-I for in vitro maturation. *Theriogenology*, **2003**, 59(8), 1775-1786.
109. **Knight PG.** Roles of inhibins, activins, and follistatin in the female reproductive system. *Front Neuroendocrinol*, **1996**, 17(4), 476-509.
110. **Knight PG, Glistler C.** TGF- $\beta$  superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction*, **2006**, 132(2), 191-206.
111. **Krecic MR, DiGangi BA, Griffin B.** Accuracy of a point-of-care luteinizing hormone test for help in distinguishing between sexually intact and ovariectomized or castrated domestic cats. *J Fel Med Surg*, **2018**, 20(10), 955-961.
112. **Kumar A, Kalra B, Patel A, McDavid L, Roudebush WE.** Development of a Second Generation Anti-Müllerian Hormone (AMH) ELISA. *J Immunol Methods*, **2010**, 362(1-2), 51-59.
113. **Kustritz MVR.** Vaginal Cytology in the Bitch and Queen. *Veterinary Cytology*, **2020**, 552-558.
114. **Kutzler MA.** Alternative methods for feline fertility control: use of melatonin to suppress reproduction. *J Feline Med Surg*, **2015**, 17(9), 753-757.
115. **La Marca A, Stabile G, Artensio AC, Volpe A.** Serum anti-Müllerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod*, **2006**, 21(12), 3103-3107.
116. **Lahoz B, Alabart JL, Cocero MJ, Monniaux D, Echegoyen E ve ark.** Anti-Müllerian hormone concentration in sheep and its dependence of age and independence of BMP15 genotype: an endocrine predictor to select the best donors for embryo biotechnologies. *Theriogenology*, **2014**, 81(2), 347-357.
117. **Lawler DF, Johnston SD, Hegstad RL, Keltner DG, Owens SF.** Ovulation without cervical stimulation in domestic cats. *J Reprod Infertil. Supplement*, **1993**, 47, 57-61.
118. **Lebbe M, Woodruff TK.** Involvement of androgens in ovarian health and disease. *Mol Hum Reprod*, **2013**, 19(12), 828-837.
119. **Lee EB, Chakravarthi VP, Wolfe MW, Rumi MA.** ER $\beta$  regulation of gonadotropin responses during folliculogenesis. *Int J Mol Sci*, **2021**, 22(19), 10348.
120. **Leyva H, Madley T, Stabenfeldt GH.** Effect of light manipulation on ovarian activity and melatonin and prolactin secretion in the domestic cat. *J Reprod Infertil. Supplement*, **1989a**, 39, 125-133.

121. **Leyva H, Madley T, Stabenfeldt GH.** Effect of melatonin on photoperiod responses, ovarian secretion of oestrogen, and coital responses in the domestic cat. *J Reprod Infertility. Supplement*, **1989b**, 39, 135-142.
122. **Li HWR, Robertson DM, Burns C, Ledger WL.** Challenges in measuring AMH in the clinical setting. *Front Endocrinol*, **2021**,12, 620.
123. **Liu XY, Yang YJ, Tang CL, Wang K, Chen JJ ve ark.** Elevation of antimüllerian hormone in women with polycystic ovary syndrome undergoing assisted reproduction: effect of insulin. *Fertil Steril*, **2019**, 111(1), 157-167.
124. **MacLachlan J.** Ovarian disorders in domestic animals. *Environ Health Perspect*, **1987**, 73, 27–33.
125. **Malandain E, Rault D, Froment E, Baudon S, Desquilbet L, Begon D, Chastant-Maillard S.** Follicular growth monitoring in the female cat during estrus. *Theriogenology*, **2011**, 76(7), 1337-1346.
126. **Martin RB, Butcher RL, Sherwood LL, Buckendahl P, Boyd RD ve ark.** Effects of ovariectomy in beagle dogs. *Bone*, **1987**, 8(1), 23-31.
127. **McGeady TA, Quinn PJ, Fitzpatrick ES, Ryan MT, Kilroy D ve ark.** *Veterinary embryology*. 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons, **2017**.
128. **McNatty KP, Smith P, Moore LG, Reader K, Lun S ve ark.** Oocyte-expressed genes affecting ovulation rate. *Mol Cell Endocrinol*, **2005**, 234(1-2), 57-66.
129. **Merchant-Larios H, Chimal-Monroy J.** The ontogeny of primordial follicles in the mouse ovary. *Prog Clin Biol Res*, **1989**, 296, 55-63.
130. **Merlo B, Iacono E, Zambelli D, Prati F, Belluzzi S.** Effect of EGF on in vitro maturation of domestic cat oocytes. *Theriogenology*, **2005**, 63(7), 2032-2039.
131. **Michael RP.** Observations upon the sexual behaviour of the domestic cat (*Felis catus* L.) under laboratory conditions. *Behaviour*, **1961**,18(1-2), 1-24.
132. **Michel C.** Induction of oestrus in cats by photoperiodic manipulations and social stimuli. *Lab Anim*, **1993**, 27(3), 278-280.
133. **Mihm M, Evans ACO.** Mechanisms for dominant follicle selection in monovulatory species: a comparison of morphological, endocrine and intraovarian events in cows, mares and women. *Reprod Domest Anim*, **2008**, 43, 48-56.
134. **Miller DM.** Ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 46 cases (1988–1992). *J Vet Diagn Invest*, **1995**,7(4), 572-574.
135. **Mills JN, Valli VE, Lumsden JH.** Cyclical changes of vaginal cytology in the cat. *Can Vet J*, **1979**, 20(4), 95.
136. **Mishina Y, Rey R, Finegold MJ, Matzuk MM, Josso N ve ark.** Genetic analysis of the Müllerian-inhibiting substance signal transduction pathway in mammalian sexual differentiation. *Gene Dev*, **1996**, 10(20), 2577-2587.
137. **Monniaux D, Baril G, Laine AL, Jarrier P, Poulin N ve ark.** Anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker for embryo production in the goat. *Reproduction*, **2011**, 142(6), 845-854.
138. **Monniaux D, Drouilhet L, Rico C, Estienne A, Jarrier P ve ark.** Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reprod Fertil Dev*, **2012**, 25(1), 1-16.
139. **Morrow LD, Gruffydd-Jones TJ, Skillings E, Welsh CP, Murray JK.** Field study assessing the performance of a patient-side blood test to determine neuter status in female cats based on detection of luteinising hormone. *J Fel Med Surg*, **2019**, 21(6), 553-558.
140. **Mossa F, Carter F, Walsh SW, Kenny DA, Smith GW ve ark.** Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. *Biol Reprod*, **2013**, 88(4), 92-1.
141. **Moy V, Jindal S, Lieman H, Buyuk E.** Obesity adversely affects serum anti-müllerian hormone (AMH) levels in Caucasian women. *J Assist Reprod Genet*, **2015**, 32(9), 1305-1311.
142. **Müller MC, Monte APO, Lins TLBG, Macedo TJS, Barros VRP ve ark.** Fibroblast growth factor-2 promotes in vitro activation of cat primordial follicles. *Zygote*, **2022**,1-5.
143. **Murase H, Saito S, Amaya T, Sato F, Ball BA ve ark.** Anti-Müllerian hormone as an indicator of hemicastrated unilateral cryptorchid horses. *J Equine Sci*, **2015**, 26(1), 15-20.
144. **Murphy BD.** Models of luteinization. *Biol Reprod*, **2000**, 63(1), 2-11.
145. **Myers M, Pangas SA.** Regulatory roles of transforming growth factor beta family members in folliculogenesis. *WIRSBW*, **2010**, 2(1), 117-125.
146. **Nagashima JB, Hansen BS, Songsasen N, Travis AJ, Place NJ.** Anti-müllerian hormone in the domestic dog during the anestrus to oestrous transition. *Reprod Domest Anim*, **2016**, 51(1), 158-164.
147. **Nakashima S, Ji H, Ishitobi S, Kawazoe S, Shinohara R ve ark.** Study of dietary phytoestrogens and estrogenic activity in pet animal diets. *Japanese Journal of Food Chemistry and Safety*, **2013**, 20(1), 22-30.

148. **Nielson S, Misdrop W, Mc EK.** Tumours of the ovary. *Bull World Health Organ*, **1976**, 53, 203–215.
149. **Nilsson EE, Skinner MK.** Growth and differentiation factor-9 stimulates progression of early primary but not primordial rat ovarian follicle development. *Biol Reprod*, **2002**, 67(3), 1018-1024.
150. **Nilsson EE, Skinner MK.** Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. *Biol Reprod*, **2003**, 69(4), 1265-1272.
151. **Nilsson E, Rogers N, Skinner MK.** Actions of anti-Müllerian hormone on the ovarian transcriptome to inhibit primordial to primary follicle transition. *Reproduction*, **2007**, 134(2), 209-221.
152. **Nilsson EE, Skinner MK.** Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol*, **2004**, 214(1-2), 19-25.
153. **Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW.** Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev*, **2000**, 80(1), 1-29.
154. **Omeran BM, Abdel-Wahed RE, El-Kammar MH, Abu-Ahmed H.** (). Ovariectomy versus Ovariohysterectomy for Elective Sterilization of Female Cats. *Alex J Vet Sci*, **2014**, 43(1).
155. **Otsuka F, Moore RK, Shimasaki S.** Biological function and cellular mechanism of bone morphogenetic Protein-6 in the ovary. *J Biol Chem*, **2001**, 276, 32889–32895.
156. **Paape SR, Shille VM, Seto H, Stabenfeldt GU.** Luteal activity in the pseudopregnant cat. *Biol Reprod*, **1975**, 13(4), 470-474.
157. **Patton BK, Madadi S, Pangas SA.** Control of ovarian follicle development by TGF- $\beta$  family signaling. *Curr Opin Endocr Metab Res*, **2021**, 18, 102-110.
158. **Pech LGM, Caballero-Chacón SDC, Guarner-Lans V, Díaz-Díaz E, Gómez AM ve ark.** Effect of oophorosalingo-hysterectomy on serum antioxidant enzymes in female dogs. *Sci Rep*, **2019**, 9(1), 1-13.
159. **Pelican KM, Brown JL, Wildt DE.** Ottinger MA, Howard JG. Short term suppression of follicular recruitment and spontaneous ovulation in the cat using levonorgestrel versus a GnRH antagonist. *Gen Comp Endocrinol*, **2005**, 144(2), 110-121.
160. **Pellatt L, Rice S, Dilaver N, Heshri A, Galea R ve ark.** Anti-Müllerian hormone reduces follicle sensitivity to follicle-stimulating hormone in human granulosa cells. *Fertil Steril*, **2011**, 96, 1246–1251.
161. **Pepling ME, Spradling AC.** Female mouse germ cells formsynchronously dividing cysts. *Development*, **1998**, 125, 3323–8.
162. **Perego MC, Bellitto N, Maylem ERS, Caloni F, Spicer LJ.** Effects of selected hormones and their combination on progesterone and estradiol production and proliferation of feline granulosa cells cultured in vitro. *Theriogenology*, **2021**, 168, 1-12.
163. **Peters H, McNatty KP.** *The ovary: A correlation of structure and function in mammals.* Univ of California Press, California, **1980**.
164. **Phillips DJ, Woodruff TK.** Inhibin: actions and signalling. *Growth factors*, **2004**, 22(1), 13-18.
165. **Pierre A, Taieb J, Giton F, Grynberg M, Touleimat S ve ark.** Dysregulation of the anti-Müllerian hormone system by steroids in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocr Metab*, **2017**, 102(11), 3970-3978.
166. **Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M.** Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev*, **2012**, 92(3), 1235-1316.
167. **Pinto PHN, Balaro MFA, Souza-Fabjan JMG, Dos Santos Ribeiro L, Bragança GM ve ark.** Anti-Müllerian hormone and antral follicle count are more effective for selecting ewes with good potential for in vivo embryo production than the presence of FecGE mutation or eCG pre-selection tests. *Theriogenology*, **2018**, 113, 146-152.
168. **Pir Yağcı İ, Polat İM, Pekcan M.** Evaluation of Age Related Anti-Müllerian Hormone Variations in Domestic Cat. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **2016a**, 22(5), 729-732.
169. **Pir Yagci I, Pekcan M, Polat IM, Kalender H, Macun HC.** Does serum anti-Müllerian hormone levels always discriminate presence of the ovaries in adult bitches? Comparison of two ELISA kits. *Reprod Domest Anim*, **2016b**, 51(6), 910-915.
170. **Place NJ, Hansen BS, Cheraskin JL, Cudney SE, Flanders JA ve ark.** Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *J Vet Diagn*, **2011**, 23(3), 524-527.
171. **Polat B, Acar DB, Macun HC, Korkmaz O, Çolak A ve ark.** Effect of epidermal growth factor on in vitro maturation of cat oocytes recovered from ovaries at follicular and luteal stages. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **2009**, 15(4), 623-627.
172. **Regan SL, Knight PG, Yovich JL, Leung Y, Arfuso F ve ark.** Involvement of bone morphogenetic proteins (BMP) in the regulation of ovarian function. *Vitam Horm*, **2018**, 107, 227-261.

173. **Reichler IM, Pfeiffer E, Piché CA, Jöchle W, Roos M ve ark.** Changes in plasma gonadotropin concentrations and urethral closure pressure in the bitch during the 12 months following ovariectomy. *Theriogenology*, **2004**, 62(8), 1391-1402.
174. **Rey R, Sabourin J, Venara M, Long W, Jaubert F ve ark.** Anti-Müllerian hormone is a specific marker of Sertoli- and granulosa-cell origin in gonadal tumors. *Hum Pathol*, **2000**, 31, 1202– 1208.
175. **Reynaud K, Gicquel C, Thoumire S, Chebrou M, Ficheux C ve ark.** Folliculogenesis and morphometry of oocyte and follicle growth in the feline ovary. *Reprod Domest Anim*, **2009**, 44(2), 174-179.
176. **Ribeiro ES, Bisinotto RS, Lima FS, Greco LF, Morrison A ve ark.** Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Int J Dairy Sci*, **2014**, 97(11), 6888-6900.
177. **Rice S, Ojha K, Whitehead S, Mason H.** Stage-specific expression of androgen receptor, follicle-stimulating hormone receptor, and anti-Mullerian hormone type II receptor in single, isolated, human preantral follicles: relevance to polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*, **2007**, 92(3), 1034-1040.
178. **Rico C, Médigue C, Fabre S, Jarrier P, Bontoux M ve ark.** Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biol Reprod*, **2011**, 84(3), 560-571.
179. **Roberts VJ, Barth SARA, el-Roeiy Albert, Yen SS.** Expression of inhibin/activin subunits and follistatin messenger ribonucleic acids and proteins in ovarian follicles and the corpus luteum during the human menstrual cycle. *J Clin Endocr*, **1993**, 77(5), 1402-1410.
180. **Rocha R, Lima L, Carvalho A, Chaves R, Bernuci M ve ark.** Immunolocalization of the Anti-Müllerian Hormone (AMH) in Caprine Follicles and the Effects of AMH on In Vitro Culture of Caprine Pre-antral Follicles Enclosed in Ovarian Tissue. *Reprod Domest Anim*, **2016**, 51 (2): 212–9.
181. **Rojo JL, Linari M, Young KA, Peluffo MC.** Stromal-derived factor 1 directly promotes genes expressed within the ovulatory cascade in feline cumulus oocyte complexes. *J Assist Reprod Gen*, **2018**, 35(5), 785-792.
182. **Root MV, Johnston SD, Olson PN.** Estrous length, pregnancy rate, gestation and parturition lengths, litter size, and juvenile mortality in the domestic cat. *J Am Anim Hosp Assoc*, **1995**, 31:429
183. **Rustamov O, Smith A, Roberts SA, Yates AP, Fitzgerald C ve ark.** Anti-Mullerian Hormone: Poor Assay Reproducibility in a Large Cohort of Subjects Suggests Sample Instability. *Hum Reprod*, **2012**, 27:3085–91.
184. **Sacchi S, D'Ippolito G, Sena P, Marsella T, Tagliasacchi D ve ark.** The anti-Müllerian hormone (AMH) acts as a gatekeeper of ovarian steroidogenesis inhibiting the granulosa cell response to both FSH and LH. *J Assist Reprod Genet*, **2016**, 33(1), 95-100.
185. **Sahmay S, Usta T, Erel CT, İmamoğlu M, Küçük M ve ark.** Is there any correlation between amh and obesity in premenopausal women? *Arch Gynecol Obstet*, **2012**, 286(3), 661-665.
186. **Saint-Dizier M, Malandain E, Thoumire S, Remy B, Chastant-Maillard S.** Expression of Follicle Stimulating Hormone and Luteinizing Hormone Receptors During Follicular Growth in the Domestic Cat Ovary. *Mol Reprod Dev*, **2007**, 74, 989-996.
187. **Salmon NA, Handyside AH, Joyce IM.** Oocyte regulation of anti-Müllerian hormone expression in granulosa cells during ovarian follicle development in mice. *Dev Biol*, **2004**, 266(1), 201-208.
188. **Santos LC, dos Anjos Cordeiro JM, da Silva Santana L, Barbosa EM, Santos BR ve ark.** Expression profile of the Kisspeptin/Kiss1r system and angiogenic and immunological mediators in the ovary of cyclic and pregnant cats. *Domest Anim Endocrinol*, **2022**, 78, 106650.
189. **Sarıbay MK ve Doğruer G.** Aktivin, Follistatin ve İnhibin. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Obstet Gynecol-Special Topics*. **2015**, 1(2), 126-133.
190. **Schäfer-Somi S.** Effect of melatonin on the reproductive cycle in female cats: a review of clinical experiences and previous studies. *J Feline Med Surg*, **2017**, 19(1), 5-12.
191. **Scheetz D, Folger JK, Smith GW, Ireland JJ.** Granulosa cells are refractory to FSH action in individuals with a low antral follicle count. *Reprod Fertil Dev*, **2012**;24(2):327-336.
192. **Schmidt PM.** Feline breeding management. *Vet Clin North Am Small Anim Prac*, **1986**, 16(3), 435-451.
193. **Schwall RH, Mason AJ, Wilcox JN, Bassett SG, Zeleznik AJ.** Localization of inhibin/activin subunit mRNAs within the primate ovary. *Mol Endocrinol*, **1990**, 4(1), 75-79.
194. **Sevgi R, Erdem H, Kardeşin T, Yılmaz MA, Satılmış M ve ark.** Determination of the relationship between serum anti-Müllerian hormone level and superovulatory response in Simmental cows. *Reprod Domest Anim*, **2019**, 54(10), 1322-1329.
195. **Shille VM, Stabenfeldt GH.** Luteal function in the domestic cat during pseudopregnancy and after treatment with prostaglandin F2α. *Biol Reprod*, **1979**, 21(5), 1217-1223.

196. **Shille VM, Munro C, Farmer SW, Papkoff H, Stabenfeldt GH.** Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus. *J Reprod Fertil*, **1983**, 69, 29–39.
197. **Shille VM, Sojka NJ.** *Feline reproduction*. In: Textbook of veterinary internal medicine. W.B. Saunders, Philadelphia, **1995**, 1690-1698.
198. **Silva JRV, Tharasanit T, Taverne MAM, Van der Weijden GC, Santos RR ve ark.** The activin-follistatin system and in vitro early follicle development in goats. *J Endocrinol*, **2006**, 189(1), 113-125.
199. **Singer T, Barad DH, Weghofer A, Gleicher N.** Correlation of antimüllerian hormone and baseline follicle-stimulating hormone levels. *Fertil and Steril*, **2009**, 91(6), 2616-2619.
200. **Sirotkin AV, Makarevich AV, Grossmann R, Kotwica J, Schaeffer HJ, ve ark.** Regulation and evaluation of ovarian function and embryogenesis in normal and transgenic animals in vitro and in vivo. Research Institute of Animal Production. **2003**.
201. **Sirotkin AV.** Growth factors controlling ovarian functions. *J Cell Physiol*, **2011**, 226(9), 2222-2225.
202. **Skalba P, Cygal A, Madej P, Dąbkowska-Huś A, Sikora J ve ark.** Is the plasma anti-Müllerian hormone (AMH) level associated with body weight and metabolic, and hormonal disturbances in women with and without polycystic ovary syndrome? *Eur J Obstet Gynecol*, **2011**, 158(2), 254-259.
203. **Snoeck F, Sarrazin S, Wydooghe E, Van Soom A.** Age and anti-Müllerian hormone levels predict the success of in vitro maturation of cat oocytes. *Reprod Domest Anim*, **2017**, 52, 98-102.
204. **Sontas BH, Gürbulak K, Ekici H.** Ovarian remnant syndrome in the bitch: a literature review. *Arch Med Vet*, **2007**, 39(2), 99-104.
205. **Souza AH, Carvalho PD, Rozner AE, Vieira LM, Hackbart KS ve ark.** Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci*, **2015**, 98(1), 169-178.
206. **Stubbs SA, Hardy K, Da Silva-Buttkus P, Stark J, Webber LJ ve ark.** Anti-Müllerian hormone protein expression is reduced during the initial stages of follicle development in human polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab*, **2005**, 90(10):5536–43.
207. **Swanson W, Roth T, Wildt D.** In vivo embryogenesis, embryo migration, and embryonic mortality in the domestic cat. *Biol Reprod*, **1994**, 51:452.
208. **Taieb J, Grynberg M, Pierre A, Arouche N, Massart P ve ark.** FSH and its second messenger cAMP stimulate the transcription of human anti-Müllerian hormone in cultured granulosa cells. *Mol Endocrinol*, **2011**, 25(4), 645-655.
209. **Takahashi M, Hayashi M, Manganaro TF, Donahoe PK.** The ontogeny of müllerian inhibiting substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. *Biology of reproduction*, **1986**, 35(2), 447-453.
210. **Tanyapanyachon P, Amelkina O, Chatdarong K.** The expression of kisspeptin and its receptor in the domestic cat ovary and uterus in different stages of the ovarian cycle. *Theriogenology*, **2018**, 117, 40-48.
211. **Taya K, Kaneko H, Takedomi T, Kishi H, Watanabe G.** Role of inhibin in the regulation of FSH secretion and folliculogenesis in cows. *Anim Reprod Sci*, **1996**, 42(1-4), 563-570.
212. **Termelioğlu L, Kalender H, Erat S.** Comparison of Vaginal Flora, Vaginal Cytology, Blood Values and Hormone Level of Cats in Different Reproductive Periods. *IJVAR*, **2022**, 5(1), 10-8.
213. **Themmen AP, Kalra B, Visser JA, Kumar A, Savjani G ve ark.** The use of anti-Müllerian hormone as diagnostic for gonadectomy status in dogs. *Theriogenology*, **2016**, 86(6), 1467-1474.
214. **Thuwanut P, Comizzoli P, Wildt DE, Keefer CL, Songsasen N.** Stem cell factor promotes in vitro ovarian follicle development in the domestic cat by upregulating c-kit mRNA expression and stimulating the phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway. *Reprod Fertil Dev*, **2017**, 29(7), 1356-1368.
215. **Torabi Asl M, Yasini SP, Shirazi Beheshtiha SH.** Evaluation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation before and after ovariohysterectomy in queen. *Iran J Vet Res*, **2022**, 71-76.
216. **Tsutsui T, Stabenfeldt G.** Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. *J Reprod Fert Suppl*, **1993**, 47:29-35.
217. **Uchikura K, Nagano M, Hishinuma M.** The effect of ovarian status and follicular diameter on maturational ability of domestic cat oocytes. *J Vet Med Sci*, **2011**, 73(5), 561-566.
218. **Umer S, Zhao SJ, Sammad A, Weldegebriall Sahlu B, Pang Y ve ark.** AMH: Could it be used as a biomarker for fertility and superovulation in domestic animals? *Genes*, **2019**, 10(12), 1009.
219. **Van Helden J, Evliyaoglu O, Weiskirchen R.** Has GnRH a direct role in AMH regulation? *Clin Endocrinol*, **2019**, 90(6), 827-833.
220. **Vercellini R, Blanco PG, Arizmendi A, Diez M, Rodríguez R ve ark.** Ovarian and uterine two-dimensional and Doppler ultrasonographic changes in the feline peri-estrus period. *J Fel Med Surg*, **2021**, 1098612X211067016.
221. **Verhage HG, Beamer NB, Brenner RM.** Plasma levels of estradiol and progesterone in the cat during polyestrus, pregnancy and pseudopregnancy. *Biol Reprod*, **1976**, 14(5), 579-85.

222. **Verstegen JP, Onclin K, Silva LD, Wouters-Ballman P, Delahaut P, Ectors F.** Regulation of progesterone during pregnancy in the cat: studies on the roles of corpora lutea, placenta and prolactin secretion. *J Reprod Fertil. Suppl*, **1993**, 47, 165-173.
223. **Verstegen JP.** *Pharmacological control of reproduction in the cat.* In: Manuel of small animal reproduction and neonatology. 1<sup>th</sup> Ed., BSAVA, UK, **1998**, 219-226.
224. **Vigier B, Tran D, du Buisson FDM, Heyman Y, Josso N.** Use of monoclonal antibody techniques to study the ontogeny of bovine anti-Müllerian hormone. *Reproduction*, **1983**, 69(1), 207-214.
225. **Vigier B, Picard JY, Tran D, Legeai L, Josso N.** Production of anti-Müllerian hormone: another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinol*, **1984**, 114(4), 1315-1320.
226. **Wallace MS.** The ovarian remnant syndrome in the bitch and queen. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, **1991**, 21(3), 501-507.
227. **Walter B, Coelfen A, Jäger K, Reese S, Meyer-Lindenberg A ve ark.** Anti-Muellerian hormone concentration in bitches with histopathologically diagnosed ovarian tumours and cysts. *Reprod Domest Anim*, **2018**, 53(3), 784-792.
228. **Walter B, Feulner H, Otzdorff C, Klein R, Reese S ve ark.** Changes in anti-Müllerian hormone concentrations in bitches throughout the oestrous cycle. *Theriogenology*, **2019**, 127, 114-119.
229. **Walter B.** Anti-Müllerian hormone in dogs and cats reproduction. *Reprod Domest Anim*, **2020**, 55, 26-31.
230. **Watson PF, Glover TE.** Vaginal anatomy of the domestic cat (*Felis catus*) in relation to copulation and artificial insemination. *J Reprod Infertil Supplement*, **1993**, 47, 355-359.
231. **Webb R, Campbell BK.** Development of the dominant follicle: mechanisms of selection and maintenance of oocyte quality. *Soc Reprod Fertil Suppl*, **2007**, 64, 141.
232. **Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, Cranfield M, Groome NP ve ark.** Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, **2004**, 10(2), 77-83.
233. **Wiebe VJ, Howard JP.** Pharmacologic advances in canine and feline reproduction. *Top Companion Anim Med*, **2009**, 24(2), 71-99.
234. **Wildt DE, Chan SYW, Seager SWJ, Chakraborty PK.** Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I. Relationships during the coitus-induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biol Reprod*, **1981**, 25(1), 15-28.
235. **Wildt DE, Comizzoli P, Pukazhenthii B, Songsasen N.** Lessons from biodiversity—the value of nontraditional species to advance reproductive science, conservation, and human health. *Mol Reprod Dev*, **2010**, 77(5), 397-409.
236. **Wongbandue G, Jewgenow K, Chatdarong K.** Effects of thyroxin (T4) and activin A on in vitro growth of preantral follicles in domestic cats. *Theriogenology*, **2013**, 79(5), 824-832.
237. **Yıldırım K, Vural MR, Küplülü Ş, Özcan Z, Polat IM.** The effects of EGF and IGF-1 on FSH-mediated in vitro maturation of domestic cat oocytes derived from follicular and luteal stages. *Reproductive Biology*, **2014**, 14(2), 122-127.
238. **Zhao Z, Guo F, Sun X, He Q, Dai Z ve ark.** BMP15 regulates AMH expression via the p38 MAPK pathway in granulosa cells from goat. *Theriogenology*, **2018**, 118, 72-79.
239. **Zheng W, Nagaraju G, Liu Z, Liu K.** Functional roles of the phosphatidylinositol 3-kinases (PI3Ks) signaling in the mammalian ovary. *Mol Cell Endocrinol*, **2012**, 356:24–30.

## ÖZGEÇMİŞ

İlk ve Orta öğrenimini Adana ve Mersin’de tamamladıktan sonra 2011 yılında Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı ve 2017 yılında mezun oldu. 2017 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı’na Araştırma Görevlisi olarak atandı. 2018 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum Jinekoloji ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı’nda doktora öğrenimine başladı.

