



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK DOĞUM VE JİNEKOLOJİSİ ANA BİLİM DALI**

**EVCİL KEDİLERDE OVARYUM REZERVİNİN
BELİRLENMESİ AMACIYLA SERUM ANTİ-MÜLLERİAN
HORMON KONSANTRASYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Müge TUNCAY

Danışman
Doç.Dr. Nilgün GÜLTİKEN

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK DOĞUM VE JİNEKOLOJİSİ ANA BİLİM DALI



**EVCİL KEDİLERDE OVARYUM REZERVİNİN
BELİRLENMESİ AMACIYLA SERUM ANTİ-MÜLLERİAN
HORMON KONSANTRASYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Doktora Tezi

Müge TUNCAY

Danışman

Doç.Dr. Nilgün GÜLTİKEN

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO. VET. 1904. 22. 008 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Müge TUNCAY tarafından, Doç.Dr. Nilgün GÜLTİKEN danışmanlığında hazırlanan başlıklı “EVCİL KEDİLERDE OVARYUM REZERVİNİN BELİRLENMESİ AMACIYLA SERUM ANTI-MÜLLERIAN HORMON KONSANTRASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ” bu çalışma, jürimiz tarafından 20.10.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof.Dr. Elvan Anadol Gazi Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Patoloji Laboratuvar Teknikleri Bölümü	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç.Dr. Nilgün Gültiken Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof.Dr. Gül Fatma Yarım Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Prof.Dr. Murat Fındık Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç.Dr. İlknur Pir Yağcı Kırıkkale Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Hazırladığım Doktora tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi ?

Evet ☒ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☐

07/07/2023
Müge TUNCAY

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı : EVCİL KEDİLERDE OVARYUM REZERVİNİN BELİRLENMESİ
AMACIYLA ANTİ-MÜLLERİAN HORMON KONSANTRASYONUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 07.07.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 6

Tek kaynak oranı : % 1 çıkmıştır.

07/07/2023

Doç.Dr. Nilgün GÜLTİKEN

ÖZET

EVCİL KEDİLERDE OVARYUM REZERVİNİN BELİRLENMESİ AMACIYLA SERUM ANTİ-MÜLLERIAN HORMON KONSANTRASYONUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Müge TUNCAY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Veterinerlik Doğum Ve Jinekolojisi Ana Bilim Dalı

Doktora, Haziran/2023

Danışman: Doç.Dr. Nilgün Gültiken

Bu tez çalışmasında 1-2 yaşlı, seksüel siklusun östrus ve interöstrus evrelerinde bulunan kedilerde ovaryum folikül sayıları ve serum anti-Müllerian hormon arasındaki korelasyonun tespit edilmesi amaçlandı. Vaginal sitoloji yapılarak grup I (n=15) östrus ve grup II (n=12) interöstrus grubu oluşturuldu. Çalışmaya alınan kediler önce fiziksel muayene, hemogram, ultrasonografi muayenesine tabi tutuldu. Operasyonla alınan ovaryumlar ilk önce %10'luk formaldehitte bekletildi. Ardından hazırlanan bloklardan alınacak olan 5-6 µm'lik seri kesitlerden ilkine hematoksilen eozin boyama metodu uygulanarak mikroskopik muayenede herhangi bir lezyon olup olmadığı saptandı. Her ovaryumda 5 kesitteki foliküller sayılarak ortalama folikül sayısı belirlendi. Foliküller primordiyal, primer, sekonder, erken antral ve antral foliküller olmak üzere sınıflandırıldı. Serum AMH, progesteron ve östrojen konsantrasyonları ELISA yöntemi ile ölçüldü. Her iki ovaryumdaki foliküller sayılarak ortalama folikül sayısı hesaplandı. Primordiyal foliküllerin sayısı östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $213,8 \pm 99,9$ ve $168,3 \pm 136,5$ olarak bulundu. Primer foliküllerin sayısı östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $75,0 \pm 46,2$ ve $57,7 \pm 29,0$ olarak belirlendi. Sekonder foliküllerin sayısı östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $52,3 \pm 50,9$ ve $40,9 \pm 25,2$ olarak gözlemlendi. Erken antral foliküllerin sayısı östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $1,5 \pm 2,5$ ve $1,3 \pm 1,3$ bulundu. Antral foliküllerin sayısının östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $2,4 \pm 1,8$ ve $3,1 \pm 1,8$ olduğu saptandı. Preantral foliküllerin sayısının östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $341,1 \pm 172,9$ ve $266,9 \pm 158,4$ olduğu görüldü. Folikül sayıları bakımından östrus ve interöstrus grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı. Interöstrus ve östrus gruplarına ait korpus luteum sayısı sırasıyla $3,0 \pm 1,4$ ve $3,2 \pm 2,3$ olarak bulundu. Serum AMH düzeyinin östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $1,4 \pm 0,5$ ng/ml ve $3,1 \pm 1,2$ ng/ml olduğu kaydedildi. Serum progesteron konsantrasyonu östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $0,5 \pm 0,1$ ng/ml ve $0,87 \pm 0,1$ ng/ml olarak belirlendi. Serum östrojen düzeyi östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $58,4 \pm 13,6$ pg/ml ve $42,3 \pm 11,4$ pg/ml ölçüldü. Östrus grubundaki kedilerin serum AMH konsantrasyonu ile primordiyal ve preantral) folikül sayıları arasında önemli pozitif korelasyon olduğu belirlendi. Sonuç olarak; grupların folikül sayılarının aynı olmasına rağmen, serum AMH seviyeleri farklılık göstermiştir.

Anahtar Sözcükler: Anti-Müllerian hormon, Ovaryum rezervi, Yaş-ovaryum rezervi.

ABSTRACT

EVALUATION OF SERUM ANTI-MULLERIAN HORMONE CONCENTRATION FOR DETERMINATION OF OVARIUM RESERVE IN CATS

Müge TUNCAY

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Veterinary Obstetrics and Gynecology Programme

Ph.D., June/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nilgün GÜLTİKEN

In this thesis study, it was aimed to determine the correlation between ovarian follicle numbers and serum anti-Müllerian hormone in 1-2 year old cats in the estrus and interestrus stages of the sexual cycle. Vaginal cytology was performed and group I (n=15) estrus and group II (n=12) interestrus group were formed. The cats included in the study were first subjected to physical examination, hemogram, and ultrasound examination. Unhealthy cats were not included in the study. Follicles removed by the operation were first kept in 10% formaldehyde. Then, the hematoxylin-eosin staining method was applied to the first of the 5-6 µm serial sections to be taken from the prepared blocks, and it was determined whether there was any lesion in the microscopic examination. The average number of follicles was determined by counting the follicles in 5 sections in each ovary. Follicles are classified as primordial, primary, secondary, early antral and antral follicles. Serum AMH, progesterone and estrogen concentrations were measured by ELISA method. As a result, the average number of follicles was calculated by counting the follicles in both ovaries of the groups included in the study. The number of primordial follicles was $213,8 \pm 99,9$ and $168,3 \pm 136,5$ in the estrus and interestrus groups, respectively. The number of primary follicles was determined as $75,0 \pm 46,2$ and $57,7 \pm 29,0$ in the estrus and interestrus groups, respectively. The number of secondary follicles was observed as $52,3 \pm 50,9$ and $40,9 \pm 25,2$ in estrus and interestrus groups, respectively. The number of early antral follicles was $1,5 \pm 2,5$ and $1,3 \pm 1,3$ in the estrus and interestrus groups, respectively. The number of antral follicles was found to be $2,4 \pm 1,8$ and $3,1 \pm 1,8$ in the estrus and interestrus groups, respectively. The number of preantral follicles was found to be $341,1 \pm 172,9$ and $266,9 \pm 158,4$ in the estrus and interestrus groups, respectively. There was no statistical difference between estrus and interestrus groups in terms of follicle numbers. The number of corpus luteum in the interestrus and estrus groups was found to be $3,0 \pm 1,4$ and $3,2 \pm 2,3$, respectively. Serum AMH levels were recorded as $1,4 \pm 0,5$ ng/ml and $3,1 \pm 1,2$ ng/ml in the estrus and interestrus groups, respectively. Serum progesterone concentration was $0,5 \pm 0,1$ ng/ml and $0,87 \pm 0,1$ ng/ml in the estrus and interestrus groups, respectively. Serum estrogen levels were $58,4 \pm 13,6$ pg/ml and $42,3 \pm 11,4$ pg/ml in the estrus and interestrus groups, respectively. It was determined that there was a significant positive correlation between serum AMH concentration of cats in the estrus group and primordial and preantral follicle numbers. As a result, although the follicle numbers of the groups were the same, serum AMH levels differed.

Keywords: ; AMH in cats, Ovarian reserve, Age-ovarian reserve.

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinden tezin son aşamasına gelene kadar bana yol gösteren, çok değerli vaktini bana ayırarak destek ve yardımlarını esirgemeyen, Veteriner Doğum ve Jinekoloji eğitimimde bana büyük katkıları olan sayın hocam Doç.Dr. Nilgün Gültiken'e yürekten teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca yanında çalışmaktan onur duyduğum saygıdeğer hocam Anabilim Dalı Başkan'ı Prof.Dr. Murat Fındık'a, tez çalışmalarım süresince beni laboratuvar çalışmaları konusunda eğiten ve bana laboratuvarlarını açarak yardımlarını esirgemeyen, değerli vakitlerini ayıran sayın hocalarım Prof.Dr. Gül Fatma Yarım'a ve Prof.Dr. Murat Yarım'a sonsuz teşekkürü borç bilirim. Tezimin laboratuvar çalışmalarında özverili katkılarını sunan Araş.Gör. Efe Karaca'ya, Araş.Gör. Ayris Gökçeoğlu'na, doktora öğrencisi Betül Akça'ya, ameliyatlarda bana yardım eden Doğum ve Jinekoloji doktora öğrencisi Eray Soylu'ya ve bölümdeki arkadaşlarıma çok teşekkür ederim. Akademik kariyerime başladığım günden bu yana bana tecrübeleriyle ışık tutan, teorik ve pratik prensipleri öğreten OMÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'ndaki değerli hocalarıma teşekkür eder, minnet ve saygılarımı sunarım. Yaşamım boyunca bana vermiş oldukları sonsuz destek ve sevgiyle çok şey borçlu olduğum sevgili anneme, babama ve ablama sonsuz teşekkür ederim.

Müge TUNCAY

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Dişilerde Pubertas ve Üreme Fizyolojisi	5
2.2. Kedilerde Östrus Siklus Evreleri	5
2.2.1. Proöstrus	6
2.2.2. Östrus	7
2.2.3. İnteröstrus	9
2.2.4. Diöstrus	10
2.2.5. Anöstrus	13
2.3. Kedide Ovaryum yapısı ve Folikül Gelişimi	14
2.4. Folikül Gelişimi ve Folikül Sayımı	16
2.4.1. Primordiyal Folikül	16
2.4.2. Primer Folikül	16
2.4.3. Sekonder Folikül	17
2.4.4. Erken Antral Folikül	17
2.4.5. Antral Folikül	17
2.5. Anti-Müllerian Hormon ve Etki Mekanizması	19
2.6. Anti-Müllerian Hormon Geni	22
2.7. Anti Müllerian Hormon Reseptör Geni	22
2.8. Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta Süper Ailesi (TGF-β)	25
2.8.1. Kemik Morfogenetik Proteinler (BMPs)	26
2.8.2. Aktivin, İnhibin ve Follistatin	27
2.8.3. Anti-Müllerian Hormon	28
2.8.4. Nodal	32
2.9. Anti-Müllerian Hormonun Beşeri Hekimlikteki Kullanımı	32
2.9.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)	33
2.9.2. Anti-Müllerian Hormonun Endometriyozisdeki Önemi	34
2.9.3. Anti-Müllerian Hormonun Memedeki Görevi	35
2.10. Anti-Müllerian Hormonun Çiftlik Hayvanlarındaki Klinik Kullanımı	35
2.10.1. Anti-Müllerian Hormonun Yaşla İlişkisi	35
2.10.2. Anti-Müllerian Hormonun Östrus Siklusuyla İlişkisi	36
2.10.3. Anti-Müllerian Hormonun Gebelik ile İlişkisi	36
2.10.4. Anti-Müllerian Hormonun Laktasyon ile İlişkisi	36
2.10.5. Anti-Müllerian Hormonun Irk Faktörüyle İlişkisi	37
2.11. Anti-Müllerian Hormonun Pet Hayvanlarındaki Klinik Kullanımı	40
2.11.1. Anti-Müllerian Hormonun Yaş ile İlişkisi	40
2.11.2. Anti-Müllerian Hormonun Irk Faktörüyle İlişkisi	42
2.11.3. Anti-Müllerian Hormonun Ovaryan Reamnant Sendromu Teşhisinde Kullanımı	42
2.11.4. Anti-Müllerian Hormonun Gebelik ile İlişkisi	43
2.11.5. Ovaryum Rezervi ve Anti-Müllerian Hormon İlişkisi	44
3. MATERYAL VE YÖNTEM	49

3.1.Hayvan Materyali	49
3.2.Sitolojik Muayene.....	49
3.3.Operasyon Tekniği	50
3.4.Histopatolojik Yöntem	53
3.5.Serum Anti-Müllerian Hormon Ölçümü.....	54
3.6.Serum Progesteron Ölçümü.....	55
3.7.Serum Östrojen Düzeyinin Ölçümü.....	56
3.8. İstatistiksel Analiz.....	57
4. BULGULAR.....	58
4.1.Hemogram Bulguları.....	58
4.2 Sitolojik Bulguları	59
4.3.Fiziksel Muayene Bulguları.....	59
4.4.Histopatolojik ve Endokronolojik Bulgular.....	60
5. TARTIŞMA.....	64
6. SONUÇ.....	70
KAYNAKÇA.....	72
EK-1-ETİK KURUL ONAYI.....	80
ÖZ GEÇMİŞ.....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

m(RNA)	: Haberci RNA
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
ActR2	: Aktin-ilgili protein 2
ALK	: Anaplastik lenfoma kinaz
AMH	: Anti-Müllerian hormon
BMPs	: Kemik morfogenetik proteinler
Bp	: Baz çifti
CTNNB1	: Katenin beta 1
DIM	: Veri bilgi anlamı
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ERK/1	: Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
FOXL2 geni	: Çatal kutusu L2 geni
FSH	: Folikül stimulan hormon
GATA	: Globin transkripsiyon faktörü
GDFs	: Büyüme farklılaşma faktörleri
Gro-β	: Büyüme düzenleyici onkojen beta
Gs	: G-proteinine bağlı reseptörler
HMG box 9	:Yüksek mobiliteli grup kutusu
HSD	: Hidroksisteroit dehidrogenaz
IEX-1S	: Ani erken yanıt geni X-1
Kbp	: Kinesin bağlayıcı protein
KL	: Korpus luteum
LH	: Luteinleştirici hormon
MIS	: Müllerian inhibe edici madde
NF-κB	: Nükleer faktör kabba B
p38-MAPK	: p38 mitojenle aktive edilmiş protein kinaz
P450scc	: Kolesterol yan zincir parçalayıcı enzim
REM	: Hızlı göz hareketleri
RNA	: Ribonükleik asit
RSPO1	: R-Spondin-1 geni
SF1	: Steroidojenik faktör-1
SF1/Nr5a1	: Nükleer reseptör alt ailesi 5. grup A üyesi 1
Smads	: Dekapentaplejik homolog proteinler

StAR	: Steroidojenik akut düzenleyici protein
TGF- β	: Dönüşütürücü büyüme faktör-beta
WNT	: Kanatsız-İlgili entegrasyon sitesi
WT1	: Wilms tümör 1 geni



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kedi siklusunun şematizasyonu	6
Şekil 2.2. Östrus siklusu boyunca LH rseptör miktarı.....	11
Şekil 2.3.Östrus siklusu boyunca luteal progesteron miktarı.....	11
Şekil 2.4. Östrus siklusu boyunca korpus luteumun kütleli değişimi.....	12
Şekil 2.5. Östrus siklusu boyunca serum östrojen ve progesteron miktarı.....	12
Şekil 2.6. Kedi ovaryumunun mikroskopik görüntüsü.....	16
Şekil 2.7. Kedide folikül çeřitleri.....	18
Şekil 2.8. Anti-Müllerian hormon sinyal mekanizması.....	21
Şekil 2.9. Anti-Müllerian hormonun üç boyutlu yapısı.....	23
Şekil 2.10. Anti-Müllerian hormonun monomerik yapısı.....	24
Şekil 3.1. Tez hasta takip formu.....	52
Şekil 3.2. Ovaryumun longitudinal olarak kesilip, parafin mumu içine gömülmesi.....	53
Şekil 3.3. ELISA analiz görseli.....	57
Şekil 4.1. Ovaryum folikül tipleri, folikül, oosit ve zona pelüsida büyüklükleri.....	61

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1. Kedilerde östrus siklus evreleri.....	14
Tablo 3.1. Folikül tipleri ve oosit büyüklüklerinin sayısal verileri.....	54
Tablo 4.1. Grup I ve Grup II'nin detaylı hemogram tablosu.....	58
Tablo 4.2. Grup I ve Grup II'nin sitolojik bulguları.....	59
Tablo 4.3. Grup I ve Grup II'nin fiziksel muayene sonuçları.....	60
Tablo 4.4. Grup I ve Grup II'ye ait folikül sayıları	62
Tablo 4.5. Grup I ve Grup II'ye ait hormon düzeyleri.....	62
Tablo 4.6. Grup I' in folikül sayıları ile hormon korelasyonları.....	63
Tablo 4.7. Grup II'nin folikül sayıları ile hormon korelasyonları.....	63

1. GİRİŞ

Evcil kedilerin, insanlarla Batı Asya ve Bereketli Hilal bölgesinde yaşamaya başlaması, günümüzden 10,000-12,000 yıl önce insanların tarımsal faaliyetlere başladığı döneme denk gelmektedir. O dönemde insanlar tarım alanlarına yerleşik hayat kurmuşlar ve kedilerin yaşam alanlarına yakın olmasına izin vererek tarım ürünlerini kemirgenlerden korumayı amaçlamışlardır. Yaban kedisi (*Felix silvestris lybica*), kemirgenleri avlamaya başlamış ve yerleşim alanlarını dolaşarak yemek artıklarını yiyerek yaşamını sürdürmüştür. Zamanla günümüzdeki evcil kedi olan *Felis catus*'a evrilmiştir (Driscoll et al., 2009). Kedilerin evcilleşme süreci yaklaşık 3500 yıl önce Mısır civarında tamamlanmıştır. Evcil kedilerin Mısır'daki yaşam alanlarına nasıl uyum sağladığı ve bu bölgenin dışına nasıl göç ettikleri hakkındaki bilgiler sınırlıdır. Avrupa kıtasında fare ve kedilerin çoğalmasında denizcilik ve deniz ticaretinin büyük payı olduğu düşünülmektedir. Yapılan arkeolojik kazılarda da evcil kedilerin ve farelerin kalıntılarına rastlanmıştır. Avrupa'da Roma dönemine ait ilk evcil kedi kalıntılarına, 2016 yılında Polonya'da yapılan kazı çalışmaları ile ulaşılmıştır. Daha sonra Avrupa'nın merkezinde yapılan kazı çalışmalarında; Yakın Neolitik dönem zamanına ait, vahşi evcil kedi mitokondriyal haplotiplerinin yer aldığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar bu tespitten sonra evcil kedilerin Avrupa'nın merkezine yaptıkları göç dalgasının daha karmaşık bir süreci içerdiğine karar vermişlerdir (Krajcarz et al., 2022).

Eski Mısır döneminde kediler, Tanrı olarak görülmekteydiler. Bu düşüncenin sebebi, kedilerin gözlerinin gece parıldamasıydı; bu nedenle Mısırlılar, kedileri akşam vakti görkemli ve kusursuz bulmaktaydılar. Milattan önce 5000. yıldan başlayarak 2000. yıla kadar hem büyük hem de küçük kediler Tanrı olarak görülmekte ve öldükleri zaman yaşadıkları yere gömülmekteydiler. Milattan 1000 yıl önce kediler ev kedisi olarak bakılmaya başlanmıştır. Toplu yaşam alanlarında ehlileştirilmiş kediler evcil kedi formu kazanmıştır. Uzun süren bu evcilleşme sürecinde, Romalılar Mısır'dan birçok kediyi kaçırmışlar; kedileri hem ev kedisi olarak hem de dini ritüellerde kullanmışlardır. Kediler, o dönemde de yaşadıkları bölgeyi kemirgenlerden ve köstebeklerden korudukları için değer görmüşlerdir (Cochrane and Area Humane Society, 2020).

Kediler öte yandan, Avrupa'da Orta Çağ döneminde kara veba salgınından sorumlu tutulmuş olsa da çiftçiler kedileri, ürünlerini kemirgenlerden korudukları için

beslemişlerdir ve daha sonra da vebanın asıl nedeninin fareler olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, Avrupa'da 16. yüzyılda 200.000'nin üzerinde kedisiyle yaşayan kadın cadı olmakla suçlanmış ve kediler şeytani varlıklar olarak kabul edilmiştir. Cadı olarak anılan bu kadınlar kedileriyle birlikte yakılmıştır. Zamanla insanlar aydınlanmaya başlayınca evcil kediler popüler pet hayvanı olmuş ve birçok kampanyanın simgesi olmuştur (Cochrane and Area Humane Society, 2020).

Çok iyi birer avcı olan kediler, yeni avlanmış taze et tüketme eğilimi içindedirler. Diğer başka hayvanların avladığı hayvanları yemeyi tercih etmezler. Küçük sinek, larva ve kurtçuk tüketmelerine rağmen bunlar onlar için önemsiz sayılmaktadır. Diğer etçillerden farklı olarak az miktarda ot, meyve ve sebze tüketen kediler, köpeklerden daha çok etçillerdir. Birçok yaban hayvanına göre nispeten kolay evcilleşen kedilerin evcilleşme sürecine rağmen doğası gereği insandan bağımsız yaşayabilme kabiliyeti ve avcılık içgüdüleri hala kaybolmamıştır (Budağ, 2016).

Birçok veteriner hekim safkan kedi ırkı yetiştiriciliğine ait sorunlardan birisinin de reproduktif açıdan bu ırkların dezavantajlara sahip olduğunu bilmektedir; buna rağmen safkan ırkların üretimi devam etmektedir (Little, 2011). Kedi ırkları ilgili yapılan bir çalışmada, 3237 farklı ırk ve yaştaki dişi kedide reproduktif hastalıkları değerlendirmek ve veri toplamak için Kuzey Trans-Ural Devlet Tarım Üniversitesi Biyoteknolojik ve Veterinerlik Enstitüsü-Nonenfeksiyöz Hastalıklar Bölümü, Tyumen veteriner klinikleri ve veteriner eczanelerinden faydalanılmıştır. Teşhis için anamnez, genital organ lezyonları, siklus bozuklukları gözlemi, ultrasonografi ve tanısal laparotomi yapılmıştır. Sonuç olarak reproduktif hastalıklar açısından en fazla yatkın olan ırklar arasında; purulent endometritis için % 32,89 oranında Mestizo ırkı ve % 25 oranında Scottish ırkı, kistik ovaryum için en fazla % 46,56 Mestizo ırkı ve % 21,37 oranında British short hair ırkı olmuştur. Meme tümörünün en çok görüldüğü ırklar ise; % 40 oranında Mestizo ırkının ve % 23,63 oranında Sphinx ırkı olmuştur. Reprodüktif hastalıklara en az yatkın olan ırklar ise; pyometra için % 3,94 İran kedileri, % 2,63 oranında Maine Coons ırkı olurken polikistik ovaryum için % 2,29 İran kedileri ve % 0,76 oranında Siyam kedileri olarak belirlenmiştir. Meme tümörlerinde ise bu oran % 7,27 ilâ Habeş kedilerinin olmuştur. Yaş-hastalık ilişkili analizlerde ise; 4-6 yaşlı kedilerin purulent endometritise % 11,84 oranında, 6-7 yaşlı kedilerin purulent endometritise % 12,21 oranında, 10 ve üzeri yaştaki kedilerin meme tümörüne % 18,18 oranında yakalandıkları belirtilmiştir (Stolbova et al., 2018).

Ovaryum endokrin, parakrin ve otokrin mekanizmalarla yönetilen kompleks bir organdır. İn vitro fertilizasyon yönteminin başarısı, kontrollü ovaryum uyarımı sonrası elde edilen oosit sayısına ve ovaryumların foliküler rezerv havuzuna bağlıdır. İnsanlarda ovaryum rezervi genetik olarak belirlenmektedir ve ilerleyen yaşla azalmasının dışında ovaryum cerrahisi, kemoterapi, radyoterapi ve otoimmün hastalıklardan da etkilenmektedir (Sharma and Chakrabarti, 2019). Ovaryum rezervinin tespiti, subfertil kadınlarda herhangi bir tedaviyi takiben gebeliğin sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bir başka deyişle, *in vitro* fertilizasyon öncesi tedavi başarısını hesaplamak ve hastalara tedavi hakkında danışmanlık yapmak amacıyla rutin olarak çeşitli ovaryum rezerv testleri (ORT) yapılmaktadır (Jirge, 2011). Dişiler, yaşamları boyunca sınırlı ovaryum rezervine sahiptirler ve oositler pubertasin farklı aşamalarına girene kadar mayoz II aşamasındadır. Ovaryumda bulunan primordiyal folikül sayısı ve kalitesi, ovaryum rezervini yansıtmaktadır (Jamil et al., 2016). Ovaryum rezervi; germ hücre çoğalması ve farklılaşması, seksüel farklılaşma, mayoz germ hücre dejenerasyonu, primordial foliküllerin oluşumu ve germ kök hücrelerinin yenilenme mekanizması da dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (Meslin et al., 2012).

Memelilerde anti-Müllerian hormon (AMH), ovaryumlarda küçük antral foliküllerden üretilir ve folikül olgunlaşması üzerinde parakrin ve otokrin görevleri vardır. Küçük antral folikül sayısı ovaryum foliküler havuzun kantitatif değerini yansıtır ve zamanla azalmaktadır. Kadınlarda AMH karakteristik bir eğri şeklinde, reproduktif dönem boyunca giderek azalır ve menopoza döneminde ölçülemez bir seviyeye ulaşır. Bundan dolayı AMH klinik olarak ovaryum rezervini en iyi yansıtabilen hormondur. Klinik kullanımları arasında; yardımcı üreme teknolojisi, ovaryum neoplazmalarının tanısı, doğurganlığın korunması, polikistik over sendromunun belirlenmesi, menopoza zamanının tahmin edilmesi ve çocuk üreme endokronolojisi alanındaki teşhisler bulunmaktadır (Shrikhande et al., 2020). Serum anti-Müllerian hormonun veteriner hekimlikteki kullanım alanları ise; ovaryum remnant sendrom, granuloza hücre tümörü, ovaryum kisti teşhisi ve ovaryum rezervinin tahmini yer almaktadır (Walter et al., 2019a).

Beşeri hekimlikte olduğu gibi veteriner hekimlikte de serum AMH konsantrasyonu; ovaryum rezervinin belirlenmesi, *in vitro* fertilizasyon tedavisi, ovaryum remnant sendromu ve ovaryum tümörlerinin teşhisi amacıyla ölçülmektedir.

Anti-Müllerian hormon sadece ovaryumda pre-antral ve erken antral foliküllerden salgılanmakta ve en güvenilir ölçümlerden biri olarak kabul edilmektedir. Bu verilere dayanarak AMH, araştırmacılar tarafından soyu tükenme tehlikesiyle karşı karşıya olan kedigiller üzerinde yapılan çalışmalarda da ölçülmektedir (Axner and Holst, 2015).

Anti-Müllerian hormon küçük antral ve preantral foliküllere ait granuloza hücreleri tarafından üretilmektedir. Folikül stimüle edici hormona karşı duyarlılığı azaltarak primordial foliküllerin aşırı derecede seçilimini engellemektedir. Anti-Müllerian hormonun serum konsantrasyonunun ovaryumdaki folikül havuzuyla ilişkili olduğu, bu nedenle ovaryum rezervlerinin ve folikül aktivitesinin bir belirteci olduğu bildirilmektedir (Köninger et al., 2015; McCredie et al., 2017; Snoeck et al., 2017). İnsanlarda, ineklerde ve köpeklerde aynı şekilde folikül rezervlerinin güvenilir bir endokrin belirteci olarak görev yapmaktadır (Hollinsead et al., 2017).

Sunulan tez çalışmasında; yaşları 1-2 arasında değişen sağlıklı ve gebe olmayan kedilerde ovaryum ve serum Anti-Müllerian hormon konsantrasyonunun belirlenmesi ve ovaryumdaki folikül rezerviyle ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Serum AHM düzeyi ve her iki ovaryumdaki pre-antral ve antral folikül sayısı, özellikle de primordial folikül sayısı arasında korelasyon olup olmadığının tespiti, klinikte dişi kedilerin fertilité durumunu belirlemek amacıyla kullanılabilir. Ayrıca, bu çalışma sonucunda elde edilecek bulgular, nesli tükenmekte olan kedi türlerinin soylarının devam etmesi için yapılan çalışmalara da yardımcı olabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dişi Kedilerde Pubertas ve Üreme Fizyolojisi

Dişi kediler mevsimsel poliöstrus gösteren hayvanlardır ve gün süresinin uzamaya başladığı mevsimde çiftleşme dönemine girerler. Patolojik bir durum olmadıkça, üreme sezonu boyunca birbirini izleyen östrus sikluslar göstermektedirler. Östrus siklusu genellikle birbirini takip eden ve ortalama 14-21 gün aralıklarla gerçekleşmektedir. Kuzey yarımkürede Ocak ve Şubat aylarında belirgin olan östrus siklusları Eylül ve Ekim aylarına doğru azalır (Johnston et al., 2001). Fotoperiyodun siklusu etkilemesi, hipotalamik-hipofiz-gonadal aksis ve melatoninin etkileşimi ile ilgilidir (Little, 2012).

Kediler pubertasa ortalama 4-12 ay süresinde erişirlerken; ırk, kilo, sosyal çevre, sağlık, fiziksel kondisyon bu süreyi etkileyebilmektedir (Griffin, 2001; Petersen, 2015). Kısa tüylü ırklar uzun tüylü ırklara göre daha kısa sürede pubertasa ulaşırlar. İran ve bu ırkla akraba olan kediler genellikle ilk östruslarını 18 aylık veya üzeri dönemde göstermektedirler. Ayrıca bu ırkların seksüel olgunluğa erişmeleri 2 ya da 3 yaşına kadar tamamlanmayabilir. Pubertasa ulaşan bireylerin ortalama vücut ağırlığı olgun bir bireyin vücut ağırlığının %80'i kadarken; Siyam, Birman kedileri gibi kısa tüylü ırklarda ergenliğe ulaşmadaki vücut ağırlığı ortalamanın altında seyredebilir. Genellikle dişi kediler yaklaşık 2,3-2,5 kg ağırlığına ulaştıklarında ilk sikluslarını göstermektedirler (England and Lea, 2019). Yetersiz ışık yoğunluğu ve ışığa maruz kalma süresinin yetersiz olması duyarsız siklusa sebep olabilmektedir (Little, 2011). Dışarda yaşayan kedilere göre evde bakılan kediler yapay ışığa maruz kalırlar. Günde 10 saat ve üzeri ışığa maruz bırakılan kedilerde sikluslar yıl boyu devam edebilir. Evde barınan kedilere 14 saatlik fotoperiyodun sağlanması ve doğal ışığa benzer floresan lambaların kullanılması östrusta istenen verimliliği sağlar (Griffin, 2001).

2.2. Kedide Östrus Siklus Evreleri

Kedide östrus siklusu; proöstrus, östrus, interöstrus, diöstrus ve anöstrus olmak üzere beş evreye ayrılır (Petersen, 2015). Siklus ayrıca davranışsal evre ve davranışsal olmayan evre olarak da sınıflandırılmaktadır. Davranışsal evre de kendi içinde; östrus davranışı görülen ve görülmeyen evreler olarak ayrılır. Östrus davranışı görülen evreler; proöstrus ve östrus evresini içerirken östrus davranışı görülmeyen evreler ise interöstrus, diöstrus ve anöstrusu içerir (Verstegen, 1998). Östrus siklusunun uzunluğu

(Johnson, 2022). Proöstrus dişinin çiftleşme isteğini kabul etmesiyle son bulur (Aydın ve Taşal, 2013). Kedilerde her zaman proöstrus şekillenmezken, bazı kedilerin anöstrustan veya interöstrustan doğrudan östrus evresine geçtiği görülmüştür (Verstegen, 1998). Proöstrus ve östrus evreleri folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinleştirici hormonun (LH) uyarımları sonucu meydana gelen folikül gelişimlerini kapsamaktadır. Folikül çapları granuloza hücrelerinden salgılanan östrojen ile birlikte artmaktadır (England and Lea, 2019). Proöstrusun başlangıcında çapı 1 mm'den küçük olan foliküller yaklaşık 223,8 µm büyüklüğündedir. Anöstrus ve interöstrusta östrojen miktarı (17β-Estradiol) 15 pg/ml'nin altında iken foliküler fazın başında 20 pg/ml'yi geçmektedir. Foliküler fazın başlamasından 1 gün önce kan östrojen konsantrasyonu 12-15 pg/ml iken, 1. gününde 25 pg/ml, 3. gününde 45 pg/ml, 5. gününde 50 pg/ml'nin hafif üstünde seyrederek, 7. günde 20-25 pg/ml ve 8. günde 10 pg/ml'ye kadar düşüş göstermektedir ve eğer ovulasyon meydana gelmezse interöstrus evresinin ilk günü olarak kabul edilir (Aydın ve Taşal, 2013).

2.2.2. Östrus

Östrus evresi 3-16 gün arasında sürmektedir (Brown and Comizzoli, 2018). Bu evrede kedilerin davranışları proöstrus evresinde görülenlere benzerdir. Dişi kediler diğer nesnelere, kedilere ve insanlara sürtünürler. Çömelip lordoz duruşuna geçerler ve bu esnada abdomen ve ventral göğüs zemin ile temas halindedir. Kuyruklarını lateral bölgeye atarak çiftleşmeye hazır şekilde beklerler.

Ovaryumlardan üretilen en önemli östrojen, östradiol-17β'dır (England and Lea, 2019). Yükselen kan östrojen konsantrasyonu ile birlikte vulva kısmen ödemli ve hiperemik görünse de küçük olup kıllarla örtülüdür. Çok sık olmamakla birlikte seröz vaginal akıntı görülebilir; fakat dış genital organda çok büyük bir değişiklik görülmez. Bu evrede idrar ile işaretleme görülen davranışlar arasındadır (Griffin, 2001). Çiftleşme, bağırma ve erkeğin dişinin ensesini kavraması ile birlikte 5-50 saniyeyi kapsamaktadır. Lordoz duruşu ve perineal bölgeyi kaldırma 0,3-8 dakika, erkeği kabul etme, ejakülasyon ve dişi kedinin çiftleşme sırasında ağlaması 1-30 saniye, çiftleşme bitimiyle erkek ve dişi kedinin ayrılması 0-1 saniye, ayrılma sonrası dişinin yuvarlanma, gerilme ve perianal bölgeyi yalaması toplam olarak 1-7 dakika sürmektedir. Başka bir çiftleşmeye kadar geçen süre 0-5 saat sürebilir. Bu evrede; bağırmalara verilen tepkilerin % 54, erkek kediye saldırma davranışının % 77, vulvayı

temizleme davranışının % 92 ve gelişigüzel yuvarlanmanın ise % 100 oranında olduğu saptanmıştır (Johnston et al., 2001).

Östrus boyunca, östrojen konsantrasyonunun yüksek seyrettiği zaman diliminde foliküller gelişmekte iken östrus başlangıcından 4-5 gün sonra ya da ovulasyon olmaması durumunda serum östrojen konsantrasyonu düşer, foliküller regrese olup atretik forma geçerler. Böylece östrus belirtileri azalarak kedi interöstrus evresine girer (England and Lea, 2019). Östradiol 17 β konsantrasyonu çiftleşme (koitus) ve ovulasyondan etkilenmez. Normalden daha uzun süren östrus evresi kistik ovaryum folikülleri ile ilintili olabilir. Bu durumda kan östrojen konsantrasyonu uzun süre yüksek konsantrasyonda seyreder ve > 20 pg/ml civarındadır (Little, 2012).

Dişi kedilerde daha çok provoke ovulasyon görülmektedir. Bu tip ovulasyon doğal çiftleşme ile olabildiği gibi yapay olarak vaginal uyarım yoluyla da meydana gelebilmektedir. Çiftleşme sırasında vaginal uyarım, mediyovenral hipotalamusta artan nöral uyarımları başlatır, gonadotropin salgılayıcı hormon (GnRH) salınımını tetikler. Gonadotropin salgılayıcı hormon salınımı da FSH ve LH dalgalanmasını meydana getirir. Benzer bir şekilde dışarıdan uygulanan gonadotropinlerin veya GnRH enjeksiyonunun uygulanmasıyla birlikte 24-48 saat içinde birkaç folikül ovulasyonu meydana gelebilir. Provoke ovulasyon görülen kedilerde çiftleşme sayısı büyük önem arz etmektedir. Yeterli çiftleşme sayısı kanda yeterli LH konsantrasyonunu sağlayıp son çiftleşmeden 24-48 saat sonra (ilk çiftleşme zamanına göre değişir) nihai folikül olgunlaşmasını ve akabinde ovulasyonu meydana getirip, pre-ovulatör foliküllerin oluşmasını sağlar (Brown and Comizzoli, 2018; Johnson, 2022). Belirgin pre-ovulatör foliküller 2 mm- 3 mm çapında ve ortalama 1-4 adet olup ovaryumun üzerinde hafifçe çıkıntı yapar (Bristol and Woodruff, 2004). Ovulatör LH salınımı, vaginal stimülasyon ya da spontan olarak dakikalar içinde başlayıp, 2 saat içinde pik yapar ve 12-24 saat içinde bazal konsantrasyona iner. Ovulasyon oranı, doğrudan salgılanan LH dalgasının büyüklüğüyle, LH dalgası da çiftleşmenin sıklığı ve sayısı ile ilişkilidir. Çiftleşme sayısının plazma LH konsantrasyonu üzerindeki etkisini belirlemek için tek çiftleşme ve çok sayıda çiftleşme sonucunda konsantrasyonu ölçülmüş ve farklı değerler elde edilmiştir. Çiftleşmeden önce konsantrasyon 10 ng/ml iken çok sayıda çiftleşme sonucunda 100 ng/ml'den fazla olduğu tespit edilmiştir. Maksimum LH salınımının 2-4 saat içinde en az 4 kere yapılan çiftleşmenin sonucunda ortaya çıktığı belirtilmiş, 4 saati aşan çoklu çiftleşmelerde ya

da daha uzun zaman dilimine yayılmış fazla koital uyarımın, salgılanan LH düzeyine bir katkısı olmayacağı belirtilmiştir (Verstegen, 1998). Bu veri ile ilgili iki öngörü vardır; birincisi hipofiz havuzundaki hormon eksikliği hipotezi olup, diğeri ise GnRH'ye tepki olarak ortaya çıkan direnç gelişimidir. Bazen dişi kedilerde ovulasyon erkek kedinin herhangi bir teması olmadan spontan gerçekleşir. Vulvar bölgedeki reseptörler lumbar bölgede de mevcuttur. Diğer dişi kedilerin ya da kastre erkek kedilerin lumbar bölgeye çiftleşme davranışında bulunması ya da bu alanın okşanması, bu bölgedeki reseptörleri uyarabilir (Noakes et al., 2001).

Spontan ovulasyon, çiftleşme olmadan ovulasyonun meydana gelmesidir ve dişi kedilerdeki mekanizması fazla aydınlatılamamıştır (Johnson, 2022). Daha çok aynı evde yaşayan, birbirlerini yalayan ve birbirlerinin üstüne atlayan kedilerde görülmektedir. Bunun dışında yüksek vücut ağırlığına sahip olanlarda görülme olasılığı yüksektir (Binder et al., 2019). Ek olarak Gudermuth vd. (1997), yaptıkları bir çalışmada aynı evde yaşayan evcil kısa tüylü ırklarda spontan ovulasyon görülme sıklığının yaklaşık % 87 gibi kayda değer bir orana sahip olduğunu kanıtlamışlardır. Ayrıca aynı evde yaşayan dişi kedilerde, erkek kedi gelmeden önce spontan ovulasyon görülme olasılığının % 0-22 iken, bir erkek kedinin aynı odada farklı bir kafese konulmasıyla birlikte bu oranının % 33-57 oranında artabileceğini ortaya koymuşlardır. Binder vd. (2019), yaptıkları çalışmada ise aynı evde yaşayan dişi kediler tarafından çiftleşmemiş erkek kedinin duyuşal, görsel ve kokusal varlığının algılanmasının da spontan ovulasyonun bir nedeni olabileceğini söylemişlerdir.

2.2.3. İnteröstrus

İnteröstrus diğeri adıyla postöstrus evresi, östrus evresinde ovulasyon olmadığı taktirde östrusu takip eden evre olarak tanımlanmıştır ve 8-10 gün sürmektedir (Johnston et al., 2001). Oryantal ırklarda bu süre kısalabilir (England and Lea, 2019). Dişi kediler bu evrede davranışsal ya da seksüel olarak herhangi bir belirti göstermezler (Verstegen, 1998). Öte yandan bazı kaynaklarda bu evre, kediler için “metöstrus evresi” olarak geçmektedir. Metöstrus evresi diğeri evcil memelilerde korpus luteumun oluştuğı evreyken, kedilerde ovulasyonun meydana gelmesi kesin olmadığı için, kedi siklusu içinde net olarak ifade edilemez (Johnston et al., 2001). Eğer kedilerde ovulasyon gerçekleşirse bu evre “diöstrus evresi” olarak adlandırılır. İnteröstrusta dominant folikül atreziye olup, plazma östradiol konsantrasyonu 20 pg/ml'nin altına düşer ve bazal konsantrasyonuna yaklaşır (Johnson, 2022; Johnston

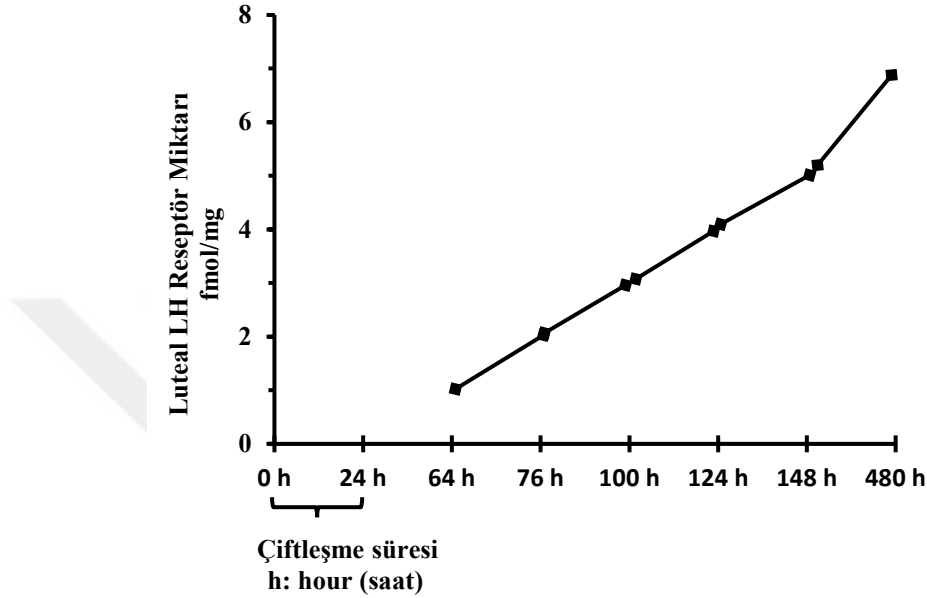
et al., 2001; Verstegen, 1998). Ovaryum ve uterus bir sonraki östrus evresi için hazırlanır (Verstegen, 1998). Bu evrenin sonunda artan plazma LH ve FSH konsantrasyonu ile beraber, foliküller büyümeye başlar ve östrus dönemi tekrar başlar (England and Lea, 2019).

2.2.4. Diöstrus

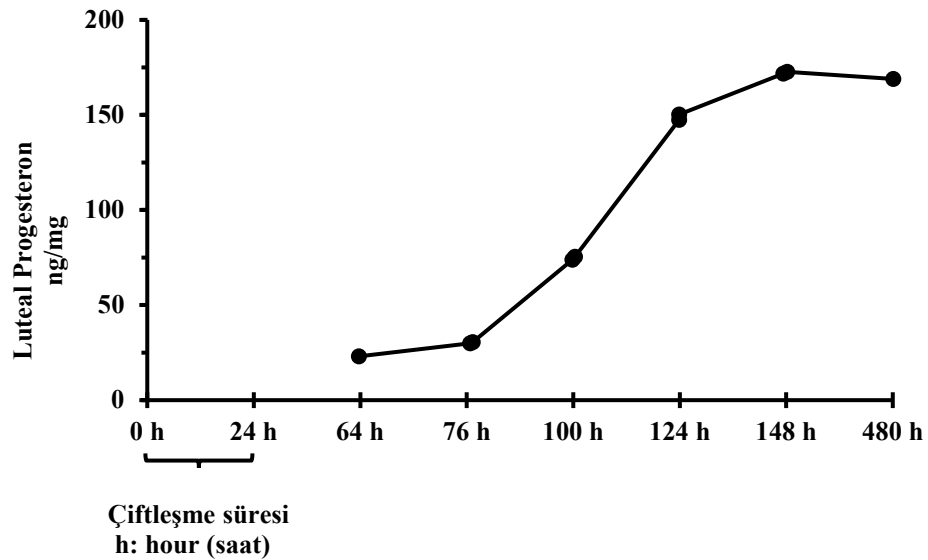
Östrus evresinde ovulasyon gerçekleşirse bu dönemi progesteronun hâkim olduğu diöstrus evresi takip eder (Griffin, 2001). Wildt vd. (1980), ovulasyon olgusunu “ya hep ya hiç” prensibine göre tanımlamışlar ve yeterli düzeyde serum LH değerine ulaşıldığı zaman olgun foliküllerin rupture olduğunu belirtmişlerdir. Ovulasyondan sonra ovumun atılmasıyla birlikte folikül duvarı yırtılır ve çok az miktarda kan folikül boşluğuna dolar ve pıhtılaşır. Bu yapıya korpus hemorajikum denilmektedir (Şimşek vd., 2012). Kanın rezorbe olması, teka ve granuloza hücrelerinin çoğalması ve luteinize olması için geçen süre en az 64 saattir. Bu süreçte hâkim olan hormon luteinleştirici hormondur. Granuloza hücrelerinin luteinizasyonu büyük luteal hücreleri oluştururken, teka hücrelerinin luteinizasyonu ise küçük luteal hücreleri oluşturur ve bu luteal hücreler progesteron salgılar (Aydın ve Taşal, 2013). Progesteron ve LH reseptör konsantrasyonları ise ilk çiftleşmeden yaklaşık 100. saate kadar olan sürede sabit seyrederken, zamanla periferik progesteron konsantrasyonu ile pozitif korelasyon göstererek artar (Şekil 2.2.). İki hormon da luteotropik aktivite göstermektedir (Brown and Comizzoli, 2018). Serum progesteron konsantrasyonunun bazal konsantrasyonun üstüne çıkması (> 1ng/ml) ovulasyondan yaklaşık 40 saat sonra (ilk çiftleşmeden yaklaşık 76 saat sonra) gerçekleşmektedir ve serum progesteron düzeyinin 25-90 ng/ml düzeyine ulaşması ise 4-22. günlerde olur (Şekil 2.3.). Ovulasyondan 48-72 saat sonra (ilk çiftleşmeden yaklaşık 100 saat sonra) korpus luteum giderek büyür, gelişir ve ilk çiftleşme baz alındığı zaman ortalama 10-16. günlerde maksimum boyutuna ulaşır (Şekil 2.4.).

Serum progesteron konsantrasyonu, gebelik şekillenmediği takdirde ortalama 40,7 güne kadar yüksek düzeyde kalır (Johnson, 2022). Bu süre normal gebelik süresinden (63-67 gün) kısadır ve yalancı gebelik olarak adlandırılmakla beraber süresi 30-44 gün arasında değişebilir. Yalancı gebeliğin bir kedide 73 güne kadar sürdüğü görülmüştür (Brown and Comizzoli, 2018; Petersen, 2015). Kedide yalancı gebelik, ovulasyonun meydana gelip gebeliğin şekillenmediği durumda meydana gelir ve korpus luteumun gelişimini devam ettirip progesteron salgılar. Progesteron

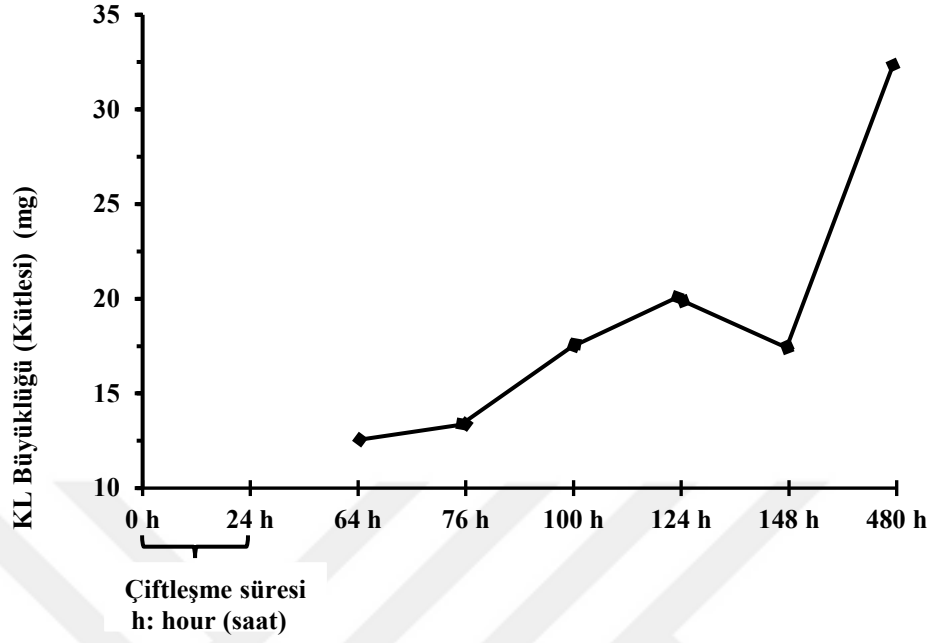
hipotalamusa negatif geri bildirim yaparak adenohipofizden FSH ve LH salınımını önlemektedir. Dolayısıyla bu evrede östrus davranışları görülmez. Kedilerdeki yalancı gebelik fizyolojisi köpeklerden farklıdır ve uzunluğu yaklaşık gebeliğin yarısı kadardır. Bu sürenin sonunda kısa sürede östrus siklusuna girerler (Griffin, 2001).



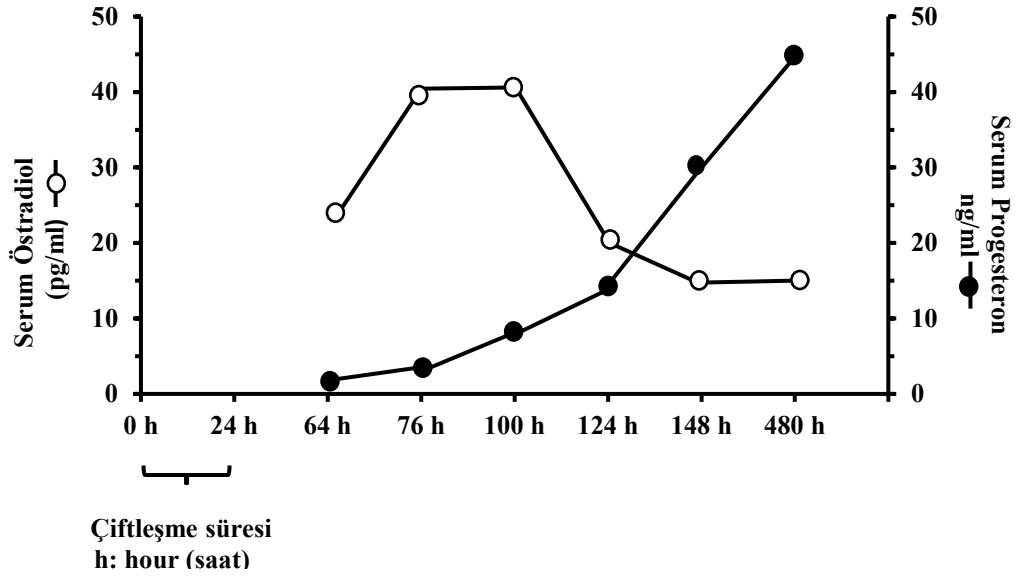
Şekil 2.2. Östrus siklusu boyunca LH reseptör miktarı (Brown and Comizzoli, 2018'den uyarlanmıştır).



Şekil 2.3. Östrus siklusu boyunca miktarı lüteal progesteron miktarı (Brown and Comizzoli, 2018'den uyarlanmıştır).



Şekil 2.4. Östrus siklusu boyunca korpus luteumun kütesel değişimi (Brown and Comizzoli, 2018'den uyarlanmıştır).



Şekil 2.5. Östrus siklusu boyunca serum östradiol ve serum progesteron ilişkisi (Brown and Comizzoli, 2018'den uyarlanmıştır).

Yalancı gebeliğin kedilerdeki belirtileri köpekler kadar bariz değildir; fakat orta derecede galaktore, yabancı kedi yavrularıyla ilgilenme ve yuva yapma davranışı görülmektedir (Griffin, 2001). Yalancı gebe kedilerde plazma progesteron konsantrasyonu ortalama 25. günde düşmeye başlar ve yaklaşık 30-40. günde bazal seviyeye düşer. Korpus luteum 25-35. günden sonra regresyon sürecine girmektedir; çünkü ortamda plasenta ve embriyo gibi korpus luteumu destekleyecek luteotropik faktörler yoktur. (England and Lea, 2019). Yapılan bir çalışmada östrojen konsantrasyonunun çiftleşmeden hemen sonra pik yaptığını daha sonra giderek azaldığını ve bir sonraki östrus siklusuna kadar bazal konsantrasyon düzeyinde seyrettiğini belirtilmiştir (Verhage et al., 1976).

2.2.5. Anöstrus

Bu evre reproduktif olarak dinlenme dönemidir ve hormonal profili interöstrus ile benzerlik gösterir. Dişiler seksüel ya da davranışsal olarak inaktiflerdir (Petersen, 2015). Anöstrus fizyolojik olarak gün ışığının azalmaya başladığı mevsimde başlar. Kuzey yarımkürede bu dönem Ekim-Aralık aylarına denk gelmektedir. Bireysel farklılıklar da başlama süresini etkilemektedir (Johnston et al., 2001). Ayrıca sıcaklığın yüksek olduğu yaz aylarında da dişi kedilerin anöstrusa girdiği görülmüştür. Bu sebeple çiftleşme sezonu ilkbahar ve sonbahar başı olmak üzere ikiye ayrılır (Little, 2012; Petersen, 2015).

Serum östrojen ve progesteron konsantrasyonları bu sürede bazal seviyede bulunmaktadır (Şekil 2.5.). Progesteron konsantrasyonu < 1 ng/ml (3,2 nmol/l) iken östrojen konsantrasyonu 8-12 pg/ml (294-44 pmol/l) düzeyindedir (Little, 2012; Petersen, 2015). Banks ve Stabenfeldt (1983), yaptıkları çalışmada kedilerde anöstrusta serum prolaktin konsantrasyonunu ölçmüşler ve konsantrasyonun ortalama $13,2 \pm 0,5$ ng/ml olduğunu tespit etmişlerdir. Aşağıda verilen tabloda siklus evreleri hakkında ayrıntılı açıklama yapılmıştır (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Kedilerde siklus evreleri (Johnson, 2022).

KEDİ ÖSTRUS SIKLUSU EVRELERİ				
Siklus Evresi	Süresi	Klinik ve Davranışsal Değişimler	Sitolojik Bulgular	Diğer Özellikler
Proöstrus	< 1 gün	Vulvada şişlik mevcut. Sürtünme var ama erkeği kabul etmez.	< %50'nin altında kornifiye hücreler çoğunlukla küçük ve geniş intermediyer hücreler	Granuloza hücrelerinden salgılanan östrojen ile birlikte folikül çapları artar.
Östrus	5-7 gün	Vokalizasyon, sürtünme, arka kısmını kaldırma var. Erkeği kabul eder.	> %75'in üstünde kornifiye hücreler çoğunlukla çekirdekli süperfisiyal	Evre çiftleşme ile sonlanır; ovulasyon olmaması durumunda yeni bir siklus başlar
İnteröstrus	8-9 gün	Hormonlar bazal seviyededir. Östrus davranışı görülmez	< %50 kornifiye hücreler; geniş intermediyer ve parabazal hücreler	Bir önceki evreden kalan foliküller regrese olur ve siklus tekrar başlar.
Diöstrus	40-45 gün	Bütün evre boyunca östrus davranışı olmaz.	Küçük intermediyer ve parabazal hücreler	Korpus luteum 40. gün civarında regrese olur ve yeni bir siklus başlar
Gebelik	63-65 gün	Bütün evre boyunca östrus davranışı olmaz.	Küçük intermediyer ve parabazal hücreler	Korpus luteum doğuma kadar varlığını devam ettirir ve doğumla birlikte regrese olur.
Anöstrus	30-90 gün	Hormonlar bazal seviyede, östrus davranışı olmaz.	Az sayıda küçük intermediyer ve parabazal hücreler	Hormonlar bazal seviyededir. Ovaryum aktivitesi yoktur.

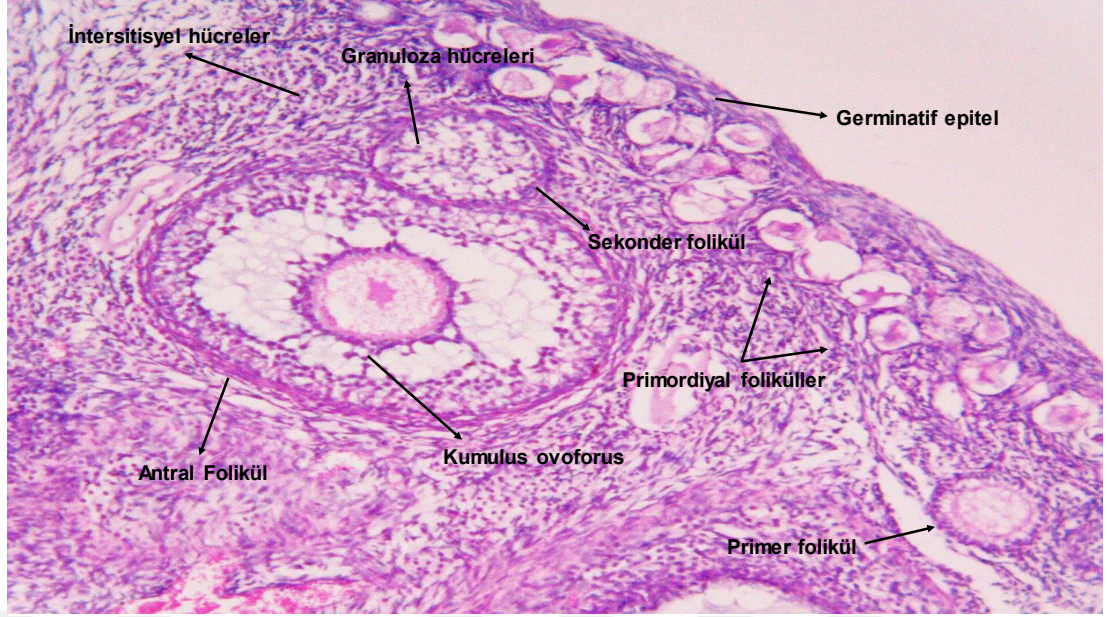
2.3. Kedide Ovaryum Yapısı ve Folikül Gelişimi

Memelilerde, ovaryum gelişiminin en erken safhası; primordiyal germ hücrelerinin embriyonik gonada göçü ve çoğalmalarıdır. Primordiyal gonadlarda kolonize olmasıyla birlikte, mobiliteyi kaybedip gametogenezis aşaması başlamaktadır. Özetle; gonad cinsiyet farklılaşmasından sonra primordiyal germ hücreleri mitotik olarak aktif oogoniayaya ve ardından bekleme fazına girecek olan primer oositlere dönüşmektedir. Kedilerde primer oosit oluşumu, fetal gelişimin yaklaşık 40-50. günleri arasında başlayıp, doğumdan sonra 8. gün sona ermektedir. Memelilerde korteks, bazal membranla çevrili medüller kordon içinde uzanan ve hücreler arası köprülerle birbirine bağlanan, mitotik olarak aktif eşey hücreleriyle

doludur. Sitoplazmik köprüler, bölünen hücreler arasında serbestçe değiş tokuş edilebilen mitokondri, ribozom ve diğer organelleri içermektedir. Eşey hücre kümelerinin parçalanmasıyla birlikte primordiyal foliküller oluşur; bu oluşum *Drosophila* ve farelerde etkili bir şekilde açıklanmıştır (Brsitol-Gould and Woodruff, 2006).

Yetişkin kedilerde ovaryumlar böbreklerin dorsal abdomino-kaudal bölgesinde olup; ortalama 1,0 x 0,3 x 0,5 cm ebatlarında ve 220 mg ağırlığındadır. Ovaryum, iğ şeklinde (ağımsı) fibroblast benzeri hücreleri içeren stroma ve düzenli yerleşim göstermeyen düz kas hücre demetlerinden oluşmaktadır. Ovaryum morfolojik olarak; korteks, medulla ve hilus olarak üç kısma ayrılmaktadır. Medulla bölgesi ovaryumun merkezidir ve foliküller bulunmamaktadır. Korteks bölgesi etrafı fibröz tunika albuginea ile çevrili kısım olmakla birlikte folikülogenezisin gerçekleştiği kısımdır. Hilus bölgesi ise ovaryumun mezovaryuma bağlandığı bölgedir, sinir ve kan damarları bu bölgeden giriş yapmaktadır (Şimşek, 2012).

Ovaryum korteks bölgesi yüzeyi hormonal değişimlere bağlı olarak prizmatik, kübik ve yassı epitel hücreleri ile döşenmektedir. Epitel hücreleriyle kaplı bu katmana germinatif epitel denilmektedir. Kısrakta korteks ve medulla ters yerleşim göstermektedir. Germinatif epitel henüz pubertasa ulaşmamış memelilerde kübik-prizmatik iken pubertasa ulaşmış canlılarda yassıdır. Bazal membran üzerine oturan bu epitelin altında kompakt bağ doku özelliğinde olan tunika albuginea yer almaktadır ve çeşitli hücre formlarına dönüşebilen hücreler içermektedir. Bu hücreler hem düz kas hem de fibroblast özelliği göstermektedir ve paransimdeki bağ dokunun içinde yaygın olarak bulunan intersitisyel hücrelere dönüşerek östrojen salgırlar (Erdost, 2011). Aşağıdaki şekilde kedi ovaryum yapısı mikroskobik olarak gösterilmiştir (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Kedi ovaryumunun mikroskopik görüntüsü, (tez hasta ismi; Lila-sol ovaryum-1.kesit-x10'luk büyütme).

2.4. Folikül Gelişimi ve Folikül Sayımı

Ovaryum folikülleri beş kategoride sınıflandırılmaktadır. Bunlar; primordiyal, primer, sekonder, erken antral ve antral foliküllerdir (Songsagen and Wildt, 2007).

2.4.1. Primordiyal Folikül

Primordiyal foliküller fetal dönemde ovaryumun korteks bölümünde, birinci mayoz bölünmeyi geçirmiş ve primer oosit aşamasına gelmişlerdir (Erdost, 2011). Morfolojik olarak oositi saran tek katlı yassı epitel hücrelerinden oluşmaktadır (Songsagen and Wildt, 2007). Pubertaya kadar ovaryumda sadece bu foliküller yoğun olarak gözükmetedir. Pubertaya ulaşıncaya ön hipofizden salgılanan FSH ile folikül gelişimi başlar. Korteksin en dış kısmına yerleşmişlerdir (Erdost, 2011). Ortalama 44,3 μm büyüklüğe sahiptir. Oosit büyüklüğü ise ortalama 40,5 μm 'dir (Reynaud, 2009).

2.4.2. Primer Folikül

Pubertas öncesi ovaryum korteksi primordiyal foliküller ile doludur. Bunun yanında az miktarda primer foliküller de yer alabilir. Morfolojik olarak primer oosit ve oositi saran tek katlı kübik epitel hücrelerinden oluşur ve belirgin bir zona pelusidaya sahiptir (Songsagen and Wildt, 2007). Zona pelusida oosit ve epitel hücreleri arasında bulunmakla beraber; asidofilik, hücre içermeyen ve glikoprotein yapıdadır. Elektron mikroskopunda bakıldığı zaman hem oosit hem de epitel

hücrelerinden oluştuğu görülmektedir. Oosit ve epitel hücreleri yoğun miktarda mikrovillus içermektedir. Mikrovilluslar oositin folikül epitellerinden diffüzyonla beslenmesini sağlar (Erdost, 2011). Folikül büyüklüğü ortalama 86,2 μm iken oosit büyüklüğü ortalama 63,8 μm 'dir (Reynaud, 2009).

2.4.3. Sekonder Folikül

Puberstas ile birlikte ön hipofizden salgılanan FSH ile birlikte oosit büyür ve folikül hücreleri çoğalır ve korteksin iç bölümüne doğru hareket eder. Epitel hücreleri prizmatikleşmektedir. Folikül epitel hücrelerinden en içte olan ve en dışta olan epitel hücreleri kübik, arada kalanlar ise poligonal biçimini alıp sekonder folikülü meydana getirmektedir. Sekonder foliküldeki çoğalan epitel hücreleri sitoplazmadan fakir oldukları için taneli görünümde olup çok katlı granuloza hücreleri olarak tanımlanır. Granuloza hücreleri folikül epitel hücrelerinin çoğalmasıyla oluşmakta ve folikülostatin hormonu salgılamaktadır (Erdost, 2011). Sekonder folikül morfolojik olarak primer oositi saran çok katlı epitel hücrelerinden oluşmaktadır (Songsagen and Wildt, 2007). Ayrıca sekonder folikülden teka folikülü şekillenir. Sekonder folikülü dıştan çevreleyen hücre ve damardan zengin kısım teka internadır. Teka interna ve folikül epitel hücreleri arasında bazal membran bulunur. Teka interna hücreleri epiteloïd karakterde ve poligonal olup östrojen sentezler. Teka eksternada yoğun olarak kollajen fibrilleri, az sayıda bağ doku hücreleri bulunmakta ve dış tabakayı oluşturmaktadır (Erdost, 2011). Sekonder folikül büyüklüğü ortalama 126 μm olup oosit büyüklüğü ise ortalama 86,2 μm 'dir (Reynaud, 2009).

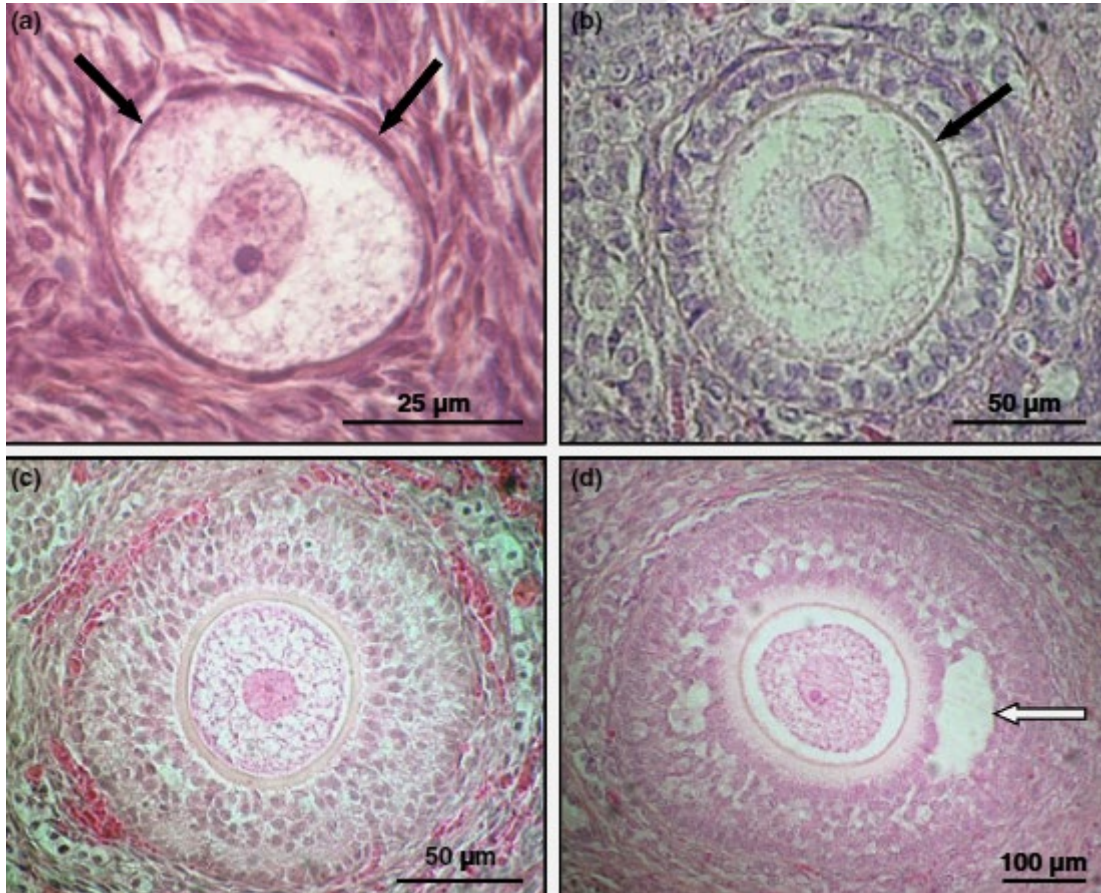
2.4.4. Erken Antral Folikül

Sekonder foliküllerin gelişmesiyle birlikte granuloza hücrelerinde erimeler sonucu antrum denilen boşluklu yapılar oluşur ve erken antral folikül formunu kazanmaktadır (Songsagen and Wildt, 2007). Küçük antral boşluklar zaman içerisinde birleşerek büyük antrum halini alır. Bu boşluklar folikül sıvısı içermektedir ve hyaluronik asitten zengindir (Erdost, 2011). Erken antral folikül ortalama 223,8 μm olup oosit büyüklüğü ise ortalama 108,1 μm 'dir (Reynaud, 2009).

2.4.5. Antral Folikül

Erken antral folikül geliştiği sürece antrumlar birleşerek yarım ay ya da C şeklini alır ve antral folikül formunu kazanır (Songsagen and Wildt, 2007). Antral foliküldeki oosit küçük adacık şeklinde görülmektedir. Bu aşamada oositin etrafını saran granuloza hücrelerine kumulus ooforus adı verilmektedir. Kumulus ooforusun

oosite yakın olan hücreleri prizmatiktir ve korona radyata hücreleri olarak adlandırılır. Zona pelusida oosit ve korona radyata arasında yer almaktadır. Ovulasyona yakın bir zamanda LH salgısı ile birlikte olgun folikül gelişmesini tamamlamaktadır. Foliküllerdeki oosit mayoz bölünmenin I. evresini tamamlayarak sekonder oosit aşamasına gelmektedir. Bölünme sürecinde sekonder oosit ve çok az sitoplazmalı I. polar cisimciği (kutup hücresi) oluşur. Fertilizasyon meydana gelmedikçe mayoz bölünme tamamlanamaz. Fertilizasyon sürecinde sekonder oositten ovum ve II. polar cisimciği oluşur ve ovum dişi ve erkek pronükleuslarının bir araya gelmesiyle zigot oluşmaktadır (Erdost, 2011). Antral ortalama folikül büyüklüğü $> 223,8 \mu\text{m}$ ve ortalama oosit büyüklüğü $> 108,1 \mu\text{m}$ 'dir (Reynaud, 2009). Brsitol-Gould ve Woodruff (2006), antral folikül büyüklüğünü ortalama 2-3 mm, oosit büyüklüğünün ise ortalama 85-100 μm olduğunu tespit etmişlerdir. Aşağıdaki şekilde Reynaud vd. (2009), dişi kedide folikül tiplerini ve büyüklüklerini göstermişlerdir (Reynaud vd. 2009) (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. Kedide folikül tipleri, (a) primordiyal folikül, (b) primer folikül, (c) sekonder folikül, (d) erken antral folikül, (Reynaud et al., 2009).

2.5. Anti-Müllerian Hormon ve Etki Mekanizması

Anti-Müllerian hormon (AMH), diğer adıyla Müllerian İnhibe Edici Madde (MIS) dimerik glikoprotein yapıda, dönüştürücü büyüme faktörü beta ailesine (TGF- β) aittir. Adını erkek cinsiyet farklılaşmasındaki görevi ile almıştır. İlk olarak 1947'de Alfret Jost tarafından erkek tavşan fetüsünden izole edilmiş ve testosterondan farklı bir testiküler faktör olduğunu belirtilmiştir (di Clemente et al., 2021). Josso vd. (1993), erkeklerde sertoli hücresinden de üretildiğini belirtmişlerdir. Aynı şekilde kadınlarda ve dişi hayvanlarda sağlıklı, büyümekte olan granuloza hücrelerinden de salgılandığı bilinmektedir. Özellikle küçük antral ve preantral foliküllerde yoğun olarak salgılanmaktayken, preovulatrör dönemde azalmakta ve atrezik foliküllerde bulunmamaktadır. Bu durum ilk olarak Ueno vd. (1989) tarafından, kemirgenlerde de keşfedilmiş, daha sonra Weenen vd. (2004) kadınlarda, Monniaux vd. (2004) sığırlarda, Veiga-Lopez vd. (2012) ise koyunlarda AMH sentezini tespit etmişlerdir.

Anti-Müllerian hormon peptit bağlarıyla oluşmuştur ve moleküler olarak yaklaşık 140 kDa ağırlığına sahiptir. İnsan AMH geni 19. kromozomun kısa kolunda yer almaktadır ve beş ekzona bölünmüş 275 baz çifti içermektedir. Bu gen 560 aminoasit içeren pro-AMH yapısını meydana getirir. Fragmanı oluşturan 24 amino asidin uzaklaştırılmasından sonra bir molekül glikolize edilirse, sülfid köprüleri ile birbirine bağlanan 70 kDa moleküler ağırlığa sahip iki özdeş alt birim oluşur ve Pro-AMH'nin proteolize edilmesiyle birlikte N ve C terminalleri oluşmaktadır. N terminaline ön bölge (115 kDa AMHN), C terminaline ise olgun bölge denilmektedir (25 kDa AMHC). C bölgesi aktif olan bölümdür (Rzeszowska et al., 2016).

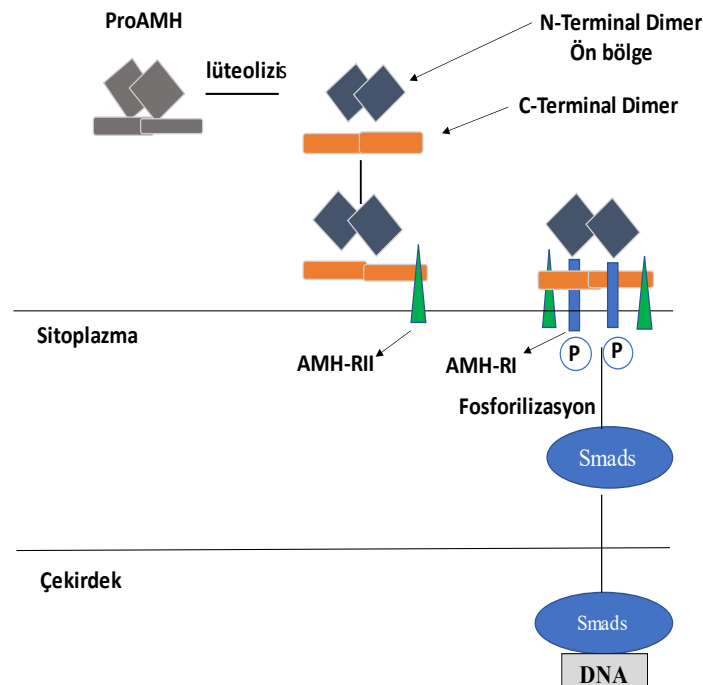
Protein ve reseptör bağlanması, C bölgesinde gerçekleşmektedir; fakat AMH'nin aktif olması için TGF- β ailesindeki diğer proteinlerden farklı olarak N-terminal fragmanına ihtiyaç duymaktadır (Rzeszowska et al., 2016). Anti-Müllerian hormon, Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta'ya (TGF- β) üye olduğu için sinyal mekanizma sistemi diğer üyelerinkine benzerlik göstermektedir. Etkisini tip I (ALK2/3/6) ve tip II (AMHRII) serin/treonin kinaz reseptörlerinin, Smads protein fosforilasyonunu meydana getirmesiyle gerçekleştirmektedir (Prapa et al., 2015). Bu reseptörler mezenşimal hücrelerde yer alırlar. Anti-Müllerian hormon doğrudan AMHRI'e affinite göstermez. İlk olarak AMHRII'ye bağlanır. Bu yapı da tip-I reseptörüne bağlanarak, iki AMH-RI ve iki AMH-RII bölümü barındıran protein

dimerinden oluşan kompleks yapıyı oluşturur. Bu yapılanma AMH-RI'nin tirozin fosforilasyonunu başlatır ve Smad protein kompleksinin, belirli genlerin transkripsiyonunu düzenlediği çekirdeğe taşıyarak başka reaksiyonlara yol açmaktadır (Rzeszowska et al., 2016).

Ovaryumda AMH bütün granuloza hücrelerinden üretilmektedir; fakat miktarı folikül tipine göre değişiklik göstermektedir. Anti-Müllerian hormonun üretimi primer folikülde başlar, en çok preantral ve küçük antral foliküllerden salgılanır, sonrasında ise büyük antral foliküllerin kumulus hücreleri haricinde salınım miktarı azalmaktadır. Anti-Müllerian hormon miktarı luteal folikülde ve atretik folikülde bulunmamaktadır. Bu durum ilk olarak koyunlarda gözlenmiş ve diğer memelerde de test edilip doğrulanmıştır (di Clemente et al., 2021).

Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta ailesi tüm insan hücrelerindeki yüzey reseptörleri ile etkileşime giren bir grup polipeptittir. Bu ligandlar hücre çoğalması ve farklılaşmasında önemli yere sahiptirler. Bu süper aile üyeleri arasında; insan kemik morfogenetik proteinleri (BMPs), aktivinler, inhibinler, büyüme ve farklılaşma faktörleri (GDFs) vardır. Bu ligandlar, hücre içi transkripsiyon faktörü olarak bilinen SMAD proteinleri ile iletişime geçerek işlevlerini gerçekleştirirler (Lai et al., 2022). Hücre gelişimi ve büyümesinin düzenlenmesinde rol oynayan ana sinyal dönüştürücüler için gerekli proteinleri Smad'lar veya SMAD'lar tarafından sağlanmaktadır. Kısaltma, Drosophila'daki genlerin Caenorhabditis Elegans SMA ("küçük" solucan fenotipi) ve SMAD ailesi (Dekapentaplejik homolog proteinler) isimlerinin birleşiminden oluşur. Yukarıda bahsedildiği gibi; Müllerian İnhibe Edici Madde/Anti-Müllerian hormon reseptörleri (MISR/AMHR), diğer TGF- β üyeleri gibi tip-I ve tip-II transmembran serin/treonin kinaz reseptörlerinin oluşturduğu heteromik bir komplekstir. Bu nedenle (MISR/AMHR)'in C-terminal dimeri önce tip-II reseptöre bağlanır, böylece MISRI /AMHRI'in fosforilasyonuna neden olur ki bu da SMAD-1, -5 ve -8 aktivasyonu ile birlikte aşağı akış sinyalini başlatır (Poole et al., 2016). Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta ailesinde yaklaşık otuzun üstünde sinyalleşmeyi sağlayan ligand vardır. Bu ligandlar; hücre içi kan akışının dengelenmesi ve memelilerdeki büyüme ve üreme döngüsünde önemli işlevleri bulunmaktadır. Ligandlar, iki adet tip-I ve tip-II serin/treonin kinazların hücre dışı alanına (ECD) bağlanarak sinyal verirler. Bu kompleks, yapısal olarak aktif tip-II reseptörünün hücre içi kinaz alanını, tip-I reseptörü hücre içi kinaz alanına ait GS (glutamin sentetaz) alanını fosforile etmek

için yeterince yakınına getirerek inhibisyonu hafifletir ve Smad transkripsiyon faktörünü aktive eder. Tip-I reseptörlerin üstün bir özelliği ise; transmembran ve kinaz alanları arasında yer alan serin, treonin ve glisin açısından zengin yaklaşık otuz kalıntılık bir segment içermesidir. Bu segment, karakteristik bir SGSGSG dizisine sahiptir ve bu nedenle GS (glutamin sentetaz) alanı olarak adlandırılmıştır. Dönüştürücü Büyüme Faktör-Beta ailesindeki sinyalleşmeyi sağlayan tip-I ve tip-II kombinasyonları sınırlı sayıdadır. Tip-I reseptörleri yedi tane olup; Aktivin reseptör benzeri kinaz 1-7 (ALK1-7)'yi kapsar. Tip-II reseptörler ise beş tane olup; ActRIIA (Aktivin Reseptör tip-II A), ActRIIB (Aktivin Reseptör tip-II B), BMPRII (Kemik Büyüme Faktörü Reseptör tip-II), TGF- β RII (Dönüştürücü Büyüme Hormonu Reseptör tip-II) ve AMHRII (Anti-Müllerian Hormon Reseptör tip-II)'dir. Anti-Müllerian hormon çoğunlukla ALK2 ve ALK3'ü kullanır. Tip-I reseptör ise TGF- β ligandlarının kemik morfogenetik protein (BMP) dalı tarafından, SMAD reseptör 1,5,9 ve BMP haberci genlerin aktivasyonunda kullanılmaktadır. Diğer bir tip-I reseptör olan ALK6 ise bulunduğu organa göre yapıcı ve yıkıcı etkileri vardır (Howard et al., 2022). AMH sinyal mekanizması aşağıdaki görselle şematize edilmiştir (Şekil 2.8.).



Şekil 2.8. Anti-Müllerian hormon sinyal mekanizması, P; fosfor, (di Clemente et al., 2021'den uyarlanmıştır).

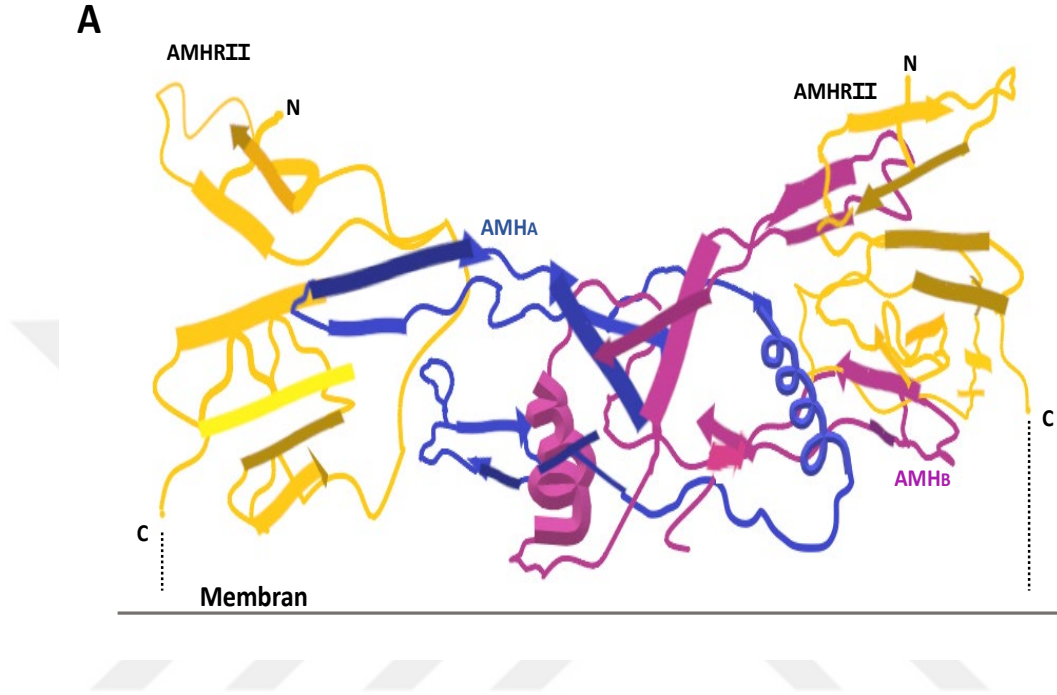
2.6. Anti-Müllerian Hormon Geni

İnsan AMH geni ilk defa 1986 yılında Cambridge'deki bir biyoteknoloji firması olan Biyogen'de Cate ve arkadaşlarının Dr. Patricia Donahoe ile iş birliği ile, dejenere oligonükleotid problemlerinin kullanılmasıyla yapılmıştır. Daha sonra Fransız ekip tarafından Anti-Müllerian hormonun gen haritası çıkarılmış; 19. kromozomun kısa kolunda tanımlanmıştır (di Clemente et al., 1994). Bu ekip daha önce sığır AMH cDNA'sını (tamamlayıcı Deoksiribonükleik asit) klonlamıştır. Anti-Müllerian hormon gen haritasında; 2,8 kbp uzunluğunda olup totalde beş eksona bölünmüş olup; 5. eksonun son üçlük bölümü olgun bölgeyi kodlamaktadır ve biyolojik aktif bölgeyi eksprese eder. En önemli kopyalama bölgesi hem sertoli hücrelerinde hem de granuloza hücrelerinde adenin-timin-guanin kodonunun başlama noktasından 10 bp (baz çifti) öncedir. Anti-Müllerian hormonun ekspresyonunun başlangıcını düzenleyen büyüme faktörlerine ait bağlanma bölgelerinin çoğu, AMH promotorunun ilk 420 baz çiftinde yoğunlaşmıştır. Bağlanma bölgeleri; SF-1, SOX9, GATA4, AP-1 ve AP-2 enzimleri için yanıt faktörleri üretirler. Distal promotorda bulunan AP2 ve NF-KB enzimleri için üretilen yukarı yanıt faktörleri, AMH transkripsiyonunun FSH kontrolüne geçmesiyle birlikte fetal hayatta ve doğumdan sonra büyük görevlere sahiplik etmektedir (Josso and Picard, 2022).

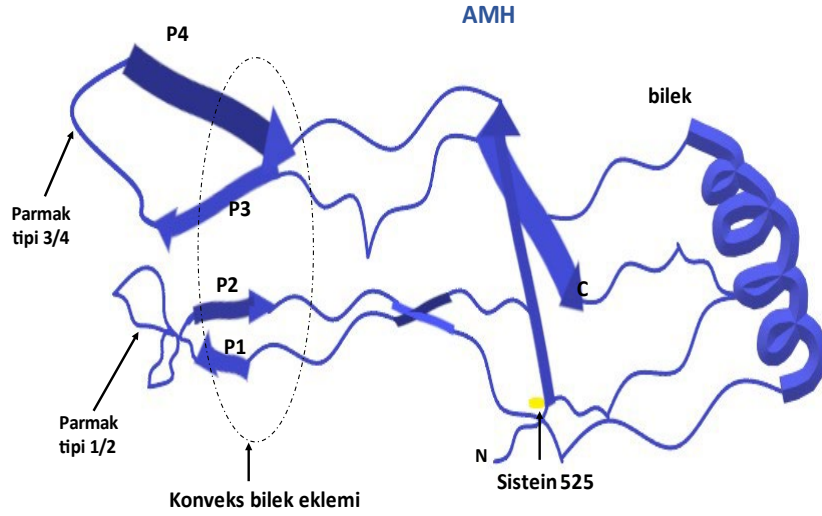
2.7. Anti-Müllerian Hormon Reseptör-2 Geni

Anti-Müllerian hormon reseptör tip-II geni ilk defa 1994 yılında klonlanmıştır. di Clemente vd. (1994), klasik AMH hedef organı, farklılaşmamış fetal Müllerian kanalından izole etmeye çalışmış; fakat organ çok küçük olduğu için fetüs tavşan ovaryumundan bir AMH hedef organı ve gen bankası oluşturmaya çalışmışlardır. Bu olaydan birkaç ay önce di Clemente vd. (1994), fare sertoli hücrelerinden bilinmeyen bir serin/treonin geni keşfetmişler ve AMH reseptörü olarak tanımlamışlardır. İnsan AMHR II geni 1995 yılında klonlanmıştır ve kromozomun uzun kolunun q13 bölgesinde yerleşim göstermektedir. 573 amino asit, 82 kD proteini kodlayan gen, yapıcı serin/treonin hücre dışı alan (ECD), tek transmembran alan ve hücre içi bir alan (ICD) oluşturmuştur. 2021 yılında AMHR II modelleme çalışması için önemli bir adım atılmıştır; AMHR II'nin hücre dışı alanına bağlanan AMH'nın x-ışını kristal yapısı çözülmüştür (Şekil 2.9. ve 2.10.). Anti-Müllerian hormon reseptör-II, AMH'nin 4. parmağının ana zinciri ile hidrojen bağına toksik etki gösteren 3 parmaklı yapının 1.

parmağının ana zincirini kullanır (Şekil 2.10.). Anti-Müllerian hormon reseptör tip-II, TGF- β ailesinde bu şekilde bağlanan tek reseptör/ligand çiftidir ve diğer tip-I reseptör tiplerine göre ligand bağlanma bölgelerinde daha fazla yük tortusu içermektedir. Bağlanma bölgelerindeki hidrofobik kalıntıları nedeniyle AMH ekspresyonunda azalmaya hatta yok olmasına neden olmaktadır (Josso and Picard, 2022).



Şekil 2.9. AMHR II hücre dışı alanına (turuncu) bağlı olan AMH'nin (mavi) üç boyutlu kristal yapısı, AMH'nin AMHR II'nin hücre membranına yakın C terminaline bağlanması, AMH'nin A ve B monomerleri mavi ve mor renkte gösterilmiş, AMHR II'nin C ve N terminalleri işaretlenmiştir, (Hart et al., 2021'den uyarlanmıştır).

B

Şekil 2.10. AMH'nin monomerik yapısı ve sistein 525 sarı renkli olarak gösterilmiştir. AMH'nin bilek, bilek eklemi ve parmak tip yapısını benzetilen yapısı, (Hart et al., 2021'den uyarlanmıştır).

Transkripsiyon DNA molekülündeki bilginin RNA (Ribonükleik asit) nükleotid dizisi haline çevrilmesi işlemidir. Gen ekspresyonu için ilk yapılması gereken işlemdir. Ribonükleik asit sentezi, RNA polimeraz enzimi tarafından sağlanır ve RNA polimerazın, genin başlangıcında yer alan promotor bölgeye bağlanmasıyla birlikte genin transkripsiyon süreci başlar. RNA transkripsiyonunun başladığı ilk baza başlama noktası adı verilir. RNA polimeraz sonlandırma dizisine (terminatör) gelinceye kadar senteze devam eder. Promotordan terminatöre kadar olan kalıp DNA dizisine transkripsiyon birimi denilmektedir. Bir transkripsiyon birimi birden fazla gen içerebilir. Başlama noktasından önceki diziler “upstream” (yukarı akış) sonraki diziler ise “downstream” (aşağı akış) olarak adlandırılır (Sreenivasan et al., 2020).

İnsan AMH promotor bölgesi cinsiyet farklılaşmasında yer alan transkripsiyon işlemi için bazı bağlanma bölgeleri içerir. Bunlar; orphan nükleer reseptör steroidojenik faktör 1 (SF1/Nr5a1), HMG box 9 ilişkili cinsiyet belirleyici Y bölgesi ve GATA ailesinden GATA 4'tür. Bu faktör ve kofaktörlerinin erkek cinsiyet farklılaşması sırasında, sertoli hücrelerindeki AMH ekspresyonları üzerindeki etkileri üzerinde çalışılmıştır. Anti-Müllerian hormon, ovaryum farklılaşmasında yer alan iki ana genetik kademe tarafından sağlanır. Bu faktörler erkek farklılaşma programını ortadan kaldırır; birincisi çatal tip L2 (FOXL2) transkripsiyon faktörü, diğeri ise

RSPO1/WNT /CTNNB1 yoludur. Öte yandan folikülogenezis başlangıcında; FOXL2 ve WNT4 faktörleri AMH protein sentezine neden olmaktadır. Bu varsayıma ilişkin olarak FOXL2 geninin granuloza hücrelerinde AMH transkripsiyonunu düzenlediği ve SF-1 geni kaynaklı AMH düzenlemesinde büyük payının olduğu bilinmektedir (di Clemente et al., 2021).

Testiküler AMH üzerinde etkili; SF1, GATA4 ve WT1 transkriptör faktörleri de ovaryumda AMH üretiminde rol oynamaktadır; çünkü bu faktörler pre-antral foliküllerin granuloza hücreleri tarafından düzenlenmektedir. AMHR II promotor bölgesi SF1, GATA4 faktörleri için bağlanma alanlarına sahip olduğu için, promotor bölgenin heterolog hücrelerde SF1, WT1 ve β -katenin/CTNNB1 sinyal yolu tarafından aktive edildiği belirtilmiştir. Anti-Müllerian hormon reseptör-II'nin ovaryumda üretilmesi sürecinde bu faktörlerin aracı olması muhtemeldir (di Clemente et al., 2021).

2.8. Dönüştürücü Büyüme Faktör-Beta Süper Ailesi (TGF- β)

Dönüştürücü Büyüme Faktör Beta Süper Ailesi, tüm insan hücrelerinde hücre yüzeyi reseptörleri ile etkileşime giren bir polipeptit grubudur. Bu ligandlar hücre büyümesi ve farklılaşmasında büyük rol oynarlar. Adı geçen büyüme faktörü aile üyeleri arasında; kemik morfogenetik proteinler (BMPs), Anti-Müllerian hormon, aktivin, inhibin, büyüme farklılaşma faktörü (GDFs) ve nodal bulunur (Lai et al., 2022). Yetişkinlerde oosit kaynağı, ovaryum primordiyal folikül havuzudur. Bu folikül havuzunun gelişmesi üç aşamada şekillenir; (1) fetal dönemde oosit üretimi (2) foliküllerin bir araya gelmesi ve (3) primordiyal foliküllerin aktif hale geçmesidir.

Dönüştürücü Büyüme Faktör Beta Süper Ailesi'nin birçok üyesi bu aşamalarda önemli etkilere sahiptirler. Bu faktörlerin büyüme ve doku homeostazında geniş ölçekli katkıları vardır. Memelilerde yaklaşık 33 adet TGF- β 'ya ait protein bulunmaktadır. Bu proteinler öncelikli olarak disulfid bağları içeren heterodimerlerdir. Bu proteinler hedef hücrede bulunan serin/treonin kinaz reseptörüne bağlanırlar. Bu bağlanmayla birlikte SMADs proteinlerinin fosforilasyonu ve aktivasyonu meydana gelir. SMADs proteinlerinin fosforilasyonu bahsi geçen TGF- β üyelerinin özellikle diğer transkripsiyonel (kopyalayıcı) kofaktörlerle kompleks yapıda bulunanların nükleer birikimlerini sağlayıp gen ekspresyonlarının yapılmasını sağlar. Ovaryum dokusunda sayısız TGF- β üyesinin somatik ve germ hücrelerinin büyümesi ve

farklılaşmasının yanında ovulasyon ve fertilizasyon süreçlerinde de önemli katkıları bulunmaktadır (Pangas, 2012).

2.8.1. Kemik Morfogenetik Proteinler (BMPs)

Dönüştürücü Büyüme Faktör Beta Süper Ailesi'nin bu büyük alt ailesi yaklaşık 20 üye içermekte ve yapı ve fonksiyonlarına göre yedi alt gruba ayrılmaktadır. Dönüştürücü Büyüme Faktör- β Süper ailesinin ligandları büyük öncü protein yapıdadırlar. Öncü proteinler dimerize proteinler (Aynı polinükleotit iplikçik üzerinde (DNA) yan yana bulunan pirimidin bazları arasında özel bağların kurulması) ve daha sonra olgun dimerik proteinler üretmek için proteolitik işlemle bölünürler. Kemik Morfogenetik Proteinler Ailesi'nin üyeleri TGF- β ailesinin diğer üyelerinden farklıdır; olgun bölgede 7'den fazla sistein kalıntısına sahiptir. Bu olgun bölgedeki 7 sistein kalıntısının 6'sı birbirine bağlıdır ve sıkı bir yapı oluştururlar ki bu yapıya “sistin düğümü” olarak adlandırılmakla birlikte, 7. sistein noktası yapısındaki disülfür bağları ile dimerizasyon için oldukça önemlidir. Memelilerde BMPs liganları olarak BMP-2, -3, -3b, -4, -6, -7, -15 ve GDF-9, reseptör olarak ise tip-I A (BMPRIA/ALK-3), tip-I B reseptörleri (BMPIB/ALK-6), tip-II reseptörleri (BMPRII) yer alır (Otsuka, 2010). Kemik Morfogenetik Proteinler Ailesi üyelerinin hepsi kemik dokusunun farklılaşması ve büyümesi ile ilgili değildir. Birçoğu farklı organlarda; hücre büyümesi, farklılaşması, apoptozis gibi biyolojik aktivitelerde de rol alır.

Ovaryum steroidogenez ve granuloza hücre çoğalmasında BMP-2,-4,-6 ve -7'nin önemli rolleri vardır; BMP-6 graaf foliküllerinin granuloza hücrelerinden salgılanıp, adenilat siklaz enzimini inhibe ederek FSH salınımını baskılar böylece dominant folikül seçilimi gerçekleşir. Teka hücrelerinden BMP-4 ve BMP-7 salınmakla birlikte, FSH ilişkili östrojen salınımını arttırıp, progesteron salınımını azaltırlar. Kemik Morfogenetik Proteinler'den BMP-7'nin FSH ilişkili östrojen salınımını arttırması FSH reseptör sinyali tarafından ERK1/2'in mRNA üretimini baskılaması yoluyla meydana gelir. (Otsuka, 2013). Oositlerdeki BMP-6 mRNA ekspresyonu, baskın folikül seçildiğinde hızla azalır, bu yargı BMP-6'nın dominant folikül seçimiyle bağlantılıdır. Granuloza hücre proliferasyonunda BMP-7 görev alırken, BMP-6'nın hücre proliferasyonu ile ilgisi yoktur. Benzer bir şekilde BMP-7 FSH uyarımlı östrojen sentezini arttırırken, BMP-6'nın östradiol üretimi üzerinde etkisi yoktur (Otsuka, 2010).

Kemik Morfogenetik Protein Ailesi üyelerinden; BMP-4 ve BMP-2'nin FSH'yi uyarmasıyla birlikte p38-MAPK enziminin fosforilasyonunun meydana gelmesi, FSH ilişkili östrojen sentezinin artmasını sağlamaktadır. İn situ melezleme ve immünohistokimyasal çalışmalar; oositlerdeki BMP-15 enzim miktarının artmasının folikül büyümesi ve gelişmesi ile ilişkili olduğunu belirtmektedir. Folikül stimulan hormon aktivitesinin baskılanması; BMP-15 tarafından FSH reseptör miktarının azaltılmasıyla meydana gelmektedir. Folikül stimulan hormonun uyardığı steroidojenik akut düzenleyici protein (StAR), P450 steroid yan zincir parçalama enzimi (P450scc), 3-β hidroksisteroid dehidrogenaz enzimi (HSD), LH reseptörü ve inhibin/aktivin alt birimlerinin hepsi BMP-15 tarafından inhibe edilmektedir. Folikül stimulan hormon uyarımıyla ilişkili progesteron sentezi ise BMP-15 enzimi tarafından inhibe edilmektedir. Bu sonuç BMP-15'in tıpkı BMP-4, -6, -7 ve GDF-9 gibi "luteinleştirici inhibitörler" grubundaki enzimler gibi işlev gösterdiğidir (Otsuka, 2013). Nilsson vd. (2006), BMP-4 kültür tedavisi yapılmış 4 günlük rat üzerinde *in vitro* bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda ovaryumlarda primer folikül sayısının arttığını, primordiyal folikül sayısının ise azaldığı tespit edilmiştir. Ters şekilde, endojen BMP4'ün antikor nötralizasyonu, primordiyal folikülde progresif oosit kaybıyla birlikte daha küçük ovaryumlara neden olmaktadır. İnsanlarda BMP-4 ekspresyonunun en yoğun olduğu dönem; gebeliğin 8-9. haftalarını kapsayan, primordiyal germ hücre mitozunun olduğu dönem iken, doğuma yakın dönemde ekspresyon miktarı azalmaktadır. Embriyonik dönemde BMP-2 ve BMP-4 kaybı primordiyal germ hücre miktarında azalma ya da oluşmamasına neden olmaktadır.

2.8.2. Aktivin, İnhibin ve Follistatin

İnhibin, aktivin ve follistatinin ovaryum folikül büyüme ve gelişme aşamalarında önemli rolleri vardır. Memelilerde, aktivinler, dört genin birinden türetilen ve iki beta alt biriminden oluşan; inhba, inhbb, inhbc ve inhbe dimerleridir. Aktivin A ve Aktivin B en çok üretilen isoformlardır (Pangas, 2012). Aktivin ve inhibin ovaryum özünden elde edilen ilk bileşenlerdir. Folikül stimulan hormon sentezini inhibe ve aktive edebilirler. Daha sonra domuz folikül sıvısından follistatin elde edilmiştir ve FSH'nin bazal sekresyonunu inhibe ettiği de bilinmektedir. İnhibin ile karıştırılmaması için "follistatin" denilmiştir. Birçok çalışma bu üçlü hormonun GnRH üretimini ve salgılanmasını etkilediği yönündedir. Dolayısıyla FSH-LH salınım döngüsünü etkilemektedir. Folikül stimulan hormon ve luteinleştirici hormon ikilisi de

ovaryum folikül büyümesi, ovulasyon, östrojen ve progesteron üretimini sağlar (Seachrist and Keri, 2019). Aktivin, inhibin ve follistatin üçlüsünün, kas artışı, lipid metabolizması, glukoz metabolizması ve reproduktif sistemde önemli görevleri vardır (Bouzoni et al., 2020).

İnhibinler ve aktivinler, farklı genler tarafından kodlanan, üç farklı öncü polipeptitten türetilen α , A ve B olmak üzere alt birimlerinden oluşur. Alt birimler, farklı aktivin ve inhibin formlarını oluşturmak için birleşir. Alt birimlerin dimerizasyonu, aktivin A ($\beta A\beta A$), aktivin AB ($\beta A\beta B$) ve aktivin B ($\beta B\beta B$) olarak adlandırılan üç aktivin formunu meydana getirir. Bir α alt biriminin ve bir βA - veya βB -alt birimlerinin dimerizasyonları sonucu; inhibin A ($\alpha\beta A$) veya inhibin B ($\alpha\beta B$) meydana gelir. Follistatin, tek bir gen tarafından kodlanan, sistein açısından zengin bir monomerik glikoproteindir. Follistatin yapısal olarak TGF- β ailesine ait değildir; fakat aktivinler için yüksek afiniteli bağlayıcı protein rolü vardır. Follistatinin, alternatif mRNA eklemesi ve translasyon sonrası modifikasyon süreci nedeniyle birkaç farklı izoforma sahiptir. Aktivin ve inhibin hem hipofiz hem de ovaryumda zıt etkilere sahiptir, çünkü her ikisi de tip II aktivin reseptörü için rekabet ederler. Aktivin ayrıca granuloza hücrelerinden FSH reseptör üretimini ve inhibin üretimini sağlarken, erken foliküler gelişim döneminde granuloza hücre çoğalmasını ve steroidogenezisi destekler. Aktivinin kendi reseptörü ile etkileşimi follistatin seviyesi tarafından düzenlenmektedir. Follistatin hipofiz ve ovaryumdaki aktivin işlevini taklit eder, bundan dolayı inhibin benzeri görevi vardır (Stangaferro et al., 2014).

2.8.3. Anti-Müllerian Hormon

Anti-Müllerian hormon, adını erkek üreme organı gelişimi ve farklılaşmasındaki görevi dolayısıyla alır. Fetal dönemde erkeklerde Müller kanalının regrese olmasını sağlar. Dişilerde ise ovaryumlardaki AMH protein üretimi sınırlıdır ve ovaryumda gelişmekte olan granuloza hücrelerinden salgılanırlar. Granuloza hücrelerindeki AMH protein sentezi, primordiyal foliküllerin primer foliküle geçiş aşamasında başlamaktadır (Pangas, 2012). Anti-Müllerian hormon, preantral ve küçük antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salgılanır aynı zamanda, preantral ve antral foliküllerin foliküler büyüme ve gelişme sürecinde etkili olan FSH'nin etkisini azaltıp germinal vezikülün folikülogenezise katılmasını inhibe ederek bu sürecin düzenlenmesini sağlarlar. Anti-Müllerian hormon, embriyonik dönemde genital farklılaşmadaki cinsiyet dimorfik süreci yöneten iki testiküler hormondan biridir.

İnsanlarda AMH hormon üretimi pre-antral aşamada artmaktadır. Aynı şekilde insan dışındaki primatlarda, farelerde, ratlarda, ineklerde, Sibirya hamsterlarında, keçilerde, koyunlarda, fırça kuyruklu keseli sıçanlarda ovaryumlarda AMH üretimi antral folikül seviyesinde azalmaktayken, preovulatör aşamada oldukça az olmaktadır. Anti-Müllerian hormon seviyesi ovulasyona kadar geniş antral foliküllerin granuloza hücrelerinde belli bir seviyede seyrederken, atretik folikül aşamasında ise belirlenememiştir (Pankhurst, 2017).

Memelilerde, FSH ovaryum foliküllerinin büyüüp farklılaşmasını sağlarken LH nihai folikül olgunlaşmasını ve ovulasyonu meydana getirmektedir (Pankhurst, 2017). Ovaryumda büyüyen foliküllerin granuloza hücreleri, erken antral foliküller de dahil olmak üzere, FSH'den bağımsız olan başlangıç gelişme aşaması için FSH reseptörlerini eksprese ederler. Luteinleştirici hormon reseptörleri ise erken antral foliküllerin granuloza, teka hücrelerinde ve korpus luteumun luteal hücrelerinde bulunmaktadır. İn vitro koşullarda farelerde FSH'nin AMH üretimi üzerindeki etkisi incelenmiş olup, hem FSH hem de FSH'nin ikinci habercisi olan cAMP'ın 3-kpb insan AMH promotorunu sitümüle ettiği ve KK1 granuloza hattının oluşmasını sağladığı belirtilmiştir. Aynı şekilde insan ve sığırların luteinize granuloza hücrelerinde düşük FSH konsantrasyonunun mevcut olması durumunda, FSH AMH üretimini arttırmaktadır. Bununla birlikte granuloza hücrelerinin östrojen üretimini belirlemek amacıyla en uygun *in vivo* çalışma ortamının oluşturulması için, kültür ortamına androjenlerin veya büyüme faktörlerinin eklenmesi, FSH ilişkili granuloza hücrelerinden AMH salgılanması etkisine müdahale eder; çünkü östrojenler hem AMH hem de AMHRII'yi inhibe eder. Ek olarak insanlarda ve koyunlarda luteal granuloza hücrelerinden östrojen üretimini gözlemlemek amacıyla kültür ortamına androjenlerin eklenmesi sonucu; FSH'nin AMH üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Sığırlarda kültür ortamına fazla miktarda östrojenlerin katılması, FSH'nin AMH üzerinde ters etki yapmasına neden olmuştur. Benzer olarak çoğu *in vivo* çalışma, FSH'nin ovaryum üzerindeki uyarımı sırasında AMH ile negatif korelasyon gösterdiğini açıklamıştır. Bu durumda FSH uyarıcı östrojen preparatlarının kullanılması, folikül havuzunun pozisyonunun değişmesine ve folikül sayısının azalmasına bağlı olarak AMH üretiminin azalmasına neden olur. Hipotalamik hipogonadizimli kadınlarda, folikül havuzundaki küçük antral foliküllerin artmasının sebebinin bu yönde olduğu belirtilmiştir. Bu hastalığa sahip kadınların serum AMH

değeri kontrol grubundan yüksektir. Maione vd. (2019), GnRH eksikliğine bağlı hipotalamik hipogonadizimli (Kallmann sendromu) hastalarda FSH'nin AMH üzerindeki etkisini araştırmak istemişlerdir. Sonuç olarak, hastalarda biraz önce bahsedilenlerin aksine FSH ile AMH arasında pozitif korelasyon saptadıklarını ve düşük FSH seviyesine bağlı düşük AMH düzeyi belirlemişlerdir. Daha sonra hastalara uygulanan rekombinant FSH tedavisi ile AMH seviyesi normale dönmüştür. FSH'nin AMH ekspresyonu üzerindeki bu olumlu etkisinin, foliküllerin nihai büyüklüğe ulaştığı zaman salgılanan östrojen miktarının folikülogenezisi etkisiz kılması yönündedir (di Clemente et al., 2020).

Anti-Müllerian hormon, *in vitro* fertilizasyon (IVF) tedavisine olan yanıtın bir göstergesidir; ancak gebelik başarısı ile doğrudan ilişkili değildir. Bu teori AMH'nin oositlerle olan ilişkisinin “nitelik” ile ilgili değil “nicelik” ile ilgisini göstermektedir. Bu nedenle AMH, tedavi için toplanan oosit sayısına ilişkin tavsiyelerde bulunmak, spesifik sitümlasyon protokolünün ve gerekli dozun belirlenmesinde kullanılmaktadır. İnsanlarda primordiyal folikül havuzu yaşla birlikte azalır ve menapozla birlikte tükenmektedir. Serum AMH seviyesi ilerleyen yaşla birlikte azalmakta ve tükenmekte olan ovaryum rezervi ile oldukça önemli bir korelasyon göstermektedir. İlerleyen yaş ile birlikte AMH miktarının hızla azalması, ovaryum rezervi tahmininde AMH'nin FSH'den önce değerlendirilebilecek bir markır olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlardan yola çıkarak AMH'nin yaşla bağlantılı bir belirteç olduğunu ve ovaryum rezervinin tahmin edilmesinde; inhibin B, östrojen ve FSH'den daha hassas olduğunu göstermektedir (Cedars, 2022).

Baba vd. (2017), yaşları $10 \pm 3,1$ olan toplam 6 al yaraklı makak (*Macaca mulatta*) maymunda *in vitro* koşullar sağlanarak; ortamda FSH olmadan androjen, östrojen ve Anti-Müllerian hormonun primer foliküllerin pre-antral ve küçük antral aşamaya geçerken folikül büyümesi ve gelişmesindeki etkilerini araştırmak istemişlerdir. Totalde iki deney gerçekleştirilmiştir. Birinci deney için; FSH olmayan erken folikülogenezis aşamasındaki *in vitro* ortama östradiol ve dihidrotestosteron ikilisini ya da AMH'yi eklemişlerdir. Rastgele seçilen üç maymundan toplamda dört grup oluşturulmuş ve her bir gruptan sekonder foliküller toplanmıştır (her gruptaki maymun başına 24 folikül). Birinci grup; kontrol grubu, ortamda FSH (1 ng/ml insan rekombinant FSH ve taşıyıcı olarak % 0,01 ng/ml etanol) olan grup olarak belirlendi. İkinci grup; ortamda FSH eklenmeyen grup, üçüncü grup; östradiol ve

dihidrotestosteron (100 pg/ml ve 50 mg/ml dihidrotestosteron) eklenmiş grup (E2/DHT) ve dördüncü grup ise AMH (50 ng/ml) eklenmiş grup olarak belirlendi. İkinci deney için; kalan üç maymundan beş grup oluşturulmuştur. Birinci grup; kontrol grubu, FSH içeren grup olarak tanımlanmış, ikinci grup; FSH içermeyen grup olarak belirlenmiş, üçüncü grup; yüksek östradiol içeren grup (1000 pg/ml) olarak, dördüncü grup; dihidrotestosteron ekli grup (50 ng/ml) olarak ve beşinci grup ise aynı dozlarda hem dihidrotestosteron hem de östradiol ekli grup olarak tanımlanmıştır.

Çalışma sonuçları; preantral foliküllerin E2 ve DHT gibi lokal faktörlere sırayla maruz bırakılması ve ardından foliküllerin antral aşamaya geldiğinde gonadotropin kullanılması, primat folikülogenezini *in vivo* olarak daha iyi taklit edebileceğini belirtmektedir. Çalışma sonucunda; makak preantral foliküllerinin *in vitro* şartlarda FSH olmadan, ovaryum kaynaklı östradiol ve DHT gibi steroid kaynaklı hormonlar vasıtasıyla varlığını sürdürüp, gelişebileceğini; fakat bu durumun AMH için geçerli olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışma; FSH bulunmayan *in vitro* ortamda, AMH'nin sekonder foliküllerin küçük antral folikül aşamasına geçişi sırasında yaptığı herhangi bir etkiye rastlanılamadığını ortaya çıkarmıştır. Bunun yanı sıra Xu vd. (2016), FSH bulunan ortamda, eksojen AMH'nin preantral folikül gelişimini desteklediğini kanıtlamışlardır. Bu nedenle FSH salınımının, preantral dönemdeki foliküllerden AMH üretimini teşvik etmek ve AMH'nin trofik etkileri için gerekli olabileceğini belirtilmişlerdir. Ek olarak Baba vd. (2017), FSH bulunan ortamdaki preantral foliküllerden salgılanan AMH'nin antral aşamaya kadar olan folikül büyümesinin belirleyicisi olduğunu ve yüksek AMH seviyesi ile gelişmekte olan folikül çapları arasında korelasyon olduğunu saptamışlardır. Primordiyal folikül havuzunun heterojen olduğunu ve hayvan türleri arasında farklılık gösterdiğini vurgulamışlar; çalışma için sadece sekonder foliküllerin seçilmesine rağmen, folikül büyüme ve seçilme aşamasının çalışmalar arasında farklılıklar gösterebileceğini belirtmişlerdir. Bu farklılığın önüne geçmek için tüm çalışmaların bir kontrol grubuyla yapılmasını ve aynı hayvanlardan alınan foliküllerin tedavi grupları arasında rastgele dağıtılmasını önermişlerdir. Çalışmanın; östradiol ve DHT ikilisinin veya sadece DHT'nin primordiyal foliküllerin varlığını sürdürmesi ve preantral büyüme aşaması için gerekli olduğunu ortaya koymuşlardır. Foliküllerdeki antrum oluşumundan sonra, FSH'nin hem hücre büyümesi hem de steroid kökenli hormon üretimi için gerekli olduğu belirtilmiştir.

2.8.4. Nodal

Nodallar, TGF- β ailesine üye olmakla birlikte; endomezodermal tabakanın oluşmasında, embriyonik gelişim sırasında sol-sağ asimetrinin belirlenmesi ve embriyonik kök hücre pluripotensinin korunmasında rol oynamaktadırlar. Nodallar ayrıca bazı kanser hücre tiplerinin proliferasyonunu ve gelişimini de kontrol etmektedir. Her ne kadar nodal gen ekspresyonu yetişkin insan dokularında nadiren tespit edilmişse de, elde edilen mikrodizi verileri yetişkinlerde pankreasın langerhans adacıklarından (endokrin pankreas) düşük seviyelerde nodal geninin eksprese edildiğini göstermektedir (Boerner et al., 2013). Boerner vd. (2013), nodal ekspresyonunun embriyonik ve yetişkin farelerde pankreas langerhans hücrelerinde mevcut olduğunu ve kontrol yetişkin farelerde daha az yoğun eksprese edildiğini saptamışlar, bu tespitle birlikte nodalın hem embriyonik hem de yetişkin langerhans adacıklarında var olduğunu ortaya koymuşlardır. Üç germ tabakası (endoderm, mezoderm ve ektoderm) omurgalı hayvanlarda organların oluşumu için önemli bir ön koşuldur. Nodal sinyaller mezoderm ve endodermin oluşumunun uyarılması ve şekillenmesi için gereklidir. Örneğin farelerde nodal sinyalizasyonu sonucu primitif çizgi oluşmazken, zebra balıkları embriyoları ise notokord, kalp, böbrek, kan, karaciğer, pankreas ve bağırsak dahil olmak üzere tüm endoderm, baş ve gövde mezoderminden yoksun olur. Nodal sinyalleme, hücrelerin pluripotent olduğu blastula aşamalarında aktif olmaktadır. Normal embriyogenez sırasında, nodal sinyalizasyon yolunun aktivitesini ve mezendodermi uygun pozisyona getirip şekillenmesini sağlar (Lord et al., 2021).

2.9. Anti-Müllerian Hormonun Beşeri Hekimlikteki Yeri

Kadınlarda AMH, ovaryumların küçük antral foliküllerinden üretilir ve folikül olgunlaşması üzerinde parakrin ve otokrin görevleri vardır. Küçük antral folikül sayısı ovaryum foliküler havuzun kantitatif değerini yansıtır ve zamanla azalmaktadır. Anti-Müllerian hormon kadınlarda karakteristik bir eğri şeklinde, reproduktif dönem boyunca giderek azalır ve menopoza döneminde ölçülemez bir seviyeye ulaşır. Bundan dolayı AMH klinik olarak ovaryum rezervini en iyi yansıtabilen hormondur. Anti-Müllerian hormon; yardımcı üreme teknolojisi, ovaryum neoplazmalarının belirlenmesinde, doğurganlığın korunması, polikistik over sendromu belirleme, menopoza zamanını tahmin etme ve çocuk üreme endokronolojisi alanlarında kullanılan en önemli hormonlardan birisidir (Shrikhande et al., 2020).

2.9.1. Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Serum AMH'deki dengesizlikler birçok patolojik sorunla ilişkilidir. Bunlardan birisi de kadınlarda görülen polikistik over sendromu (PKOS) olup aşırı AMH üretimi ile ilişkilidir (Shrikhande et al., 2020). Kadınların % 6-15'ini etkilemektedir. Öncelikli klinik belirtisi ovulasyonun meydana gelmemesine bağlı menstrual düzensizliktir. PKOS'u ilgilendiren organlar; hipotalamus, hipofiz bezi, ovaryum, adrenal bez ve periferik yağ dokusu olmaktadır ve hepsi bir araya gelerek sistemik bir dengesizliğe yol açar (Muhas et al., 2018). Kadınların %40'ı ovulasyon düzensizliğine bağlı infertil olmaktadır. Polikistik over sendromu ile polikistik over birbirinden farklı olgulardır. Polikistik overe sahip kadınların ovaryum ultrason görüntülerinde 2-8 mm çapında olan çok sayıda kiste sahiptirler. Polikistik over sendromunda ise androjenlerin artışı, ovulasyon bozukluğu ve ovaryumlardaki kistik yapıları bulunduran kompleks bir tablo karşımıza çıkmaktadır. Bir oosit hücresinin granuloza ve teka hücreleriyle ortak interaksiyonu folikül gelişiminde önemli bir yere sahiptir. Granuloza hücreleri oositi saran somatik hücrelerdir ve serum FSH-LH artışına bağlı olarak sayıları artmakla birlikte testosteron ile ters korelasyon gösterir. Folikül stimulan hormon granuloza hücrelerini uyararak hücre yüzeyindeki LH reseptörlerini aktive eder ve LH bu reseptörlere bağlandığında proliferasyon sonlanır (Moreno-Sepulveda et al., 2022).

Granuloza hücrelerinin görevleri oosit gelişimi için büyüme hormonunu üretmek ve steroid kökenli hormonları sentezlemektir. Folikül stimulan hormonun uyarımıyla granuloza hücreleri androjenleri östradiole çevirir. Anormal estradiol seviyesi FSH'nin artmasını engelleyerek anovulasyona neden olur. Ovulasyonunun hemen takibinde ise LH'nin etkisiyle granuloza hücreleri luteinize olur ve progesteron sentezlemeye başlar. Polikistik over sendromunda ise düşük serum FSH seviyesi nedeniyle ovulasyon meydana gelmez ve granuloza hücreleri luteinize olamadığından progesteron sentezi olmaz. Oositler ovule olamadığı için kistik yapı halini alır (Aydos vd., 2016). Serum AMH'nin artmış olması ovaryum küçük antral folikül sayısının artmış olmasından kaynaklanmaktadır. Hiperandrojenizm insülin direncinden ve hiperinsülinizm olgusundan ya da PKOS'un kilit noktası olarak gösterilen; küçük antral foliküllerdeki teka hücrelerinin artışına bağlı anormal LH sentezi ile ilişkilendirilebilir (Shrikhande et al., 2020). GnRH/LH pulzasyonu ve serum LH ve/ya da LH/FSH oranı yükselmiştir. Serum ve folikül sıvısındaki AMH konsantrasyonu normalin 2-4 katı yüksekliğindedir. Granuloza hücrelerindeki AMHR_{II}'de sayıca

artmıştır. Bu yüksekliğin sebebi biraz önce de bahsedildiği gibi küçük antral foliküllerdeki granuloza hücrelerinin artışından kaynaklanmaktadır. Bu foliküllerden en fazla AMH salgılanmaktadır (di Clemente et al., 2021). Bu sebeple AMH teşhis için indirek markır olarak değerlendirilebilir (Shrikhande et al., 2020).

Yin vd. (2022), ilaçların serum AMH üzerine yaptığı etki üzerine meta-analiz yapmışlardır. Oral kontraseptifler (OCs), metmorfin (MET), vitamin D, letrozole (LET), Gonadotropin salgılayıcı hormon agonisti (GnRH-a), klomifen sitrat (CC) ve dehidroepiandrosteron (DHEA) olmak üzere toplam 7 ilaç üzerinde çalışmışlardır. Yardımcı üreme kliniklerinde oral kontraseptifler genel olarak ovaryum uyarımından önce kullanılır. Bu ilaçlar FSH ve LH'yi negatif yönde inhibe ederler. Oral kontraseptiflerin tedavi öncesi kullanılması, ovaryumun AMH duyarlılığını azaltmaktadır. Anti-Müllerian hormon FSH'ye karşı duyarlı bir hormondur. Serum FSH azalması da bu ilacın granuloza hücrelerindeki uyarımı azaltmasından kaynaklıdır, ki böylece AMH salınımında azalma meydana gelir. Metmorfin PKOS için en yaygın kullanılan ilaçlardan birisidir. Metmorfin insülin duyarlılığını artırır ve kan şekerini düzenler. Androjen seviyesini düşürür ve ovulasyonu sağlar. Bu literatürdeki meta-analiz çalışmaları PKOS'lu hastalarda MET kullanımını önermektedir. Endometritli hastalarda Gonadotropin salgılayıcı hormon kullanımı geleneksel tedavi yöntemleri arasında bulunmakla birlikte serum AMH seviyesinde önemli değişikliklere neden olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmaya göre düşük ovaryum rezervine (DOR/POR) sahip hastalarda dehidroepiandrosteron kullanımının ve D vitamini kullanımının serum AMH değerini arttırdığı belirlenmiştir. PKOS için kullanılan klomifen sitratın serum AMH hormon düzeyini düşürdüğü belirtilmiştir. Menstrual döngü bozuklukları için kısa süreli letrozol kullanımının serum AMH seviyesinde bir değişiklik meydana getirmediği belirlenmiştir (Yin et al., 2022).

2.9.2. Anti-Müllerian Hormonun Endometriyozisdeki Önemi

Endometriyozis endometriyum hücrelerinin uterus kavitesinin dışında bulunmasıdır. Klinik semptomları arasında; infertilite ve pelvis ağrısı mevcuttur. Dubuisson ve Chapron (1994), endometriyozisi üç gruba ayırmıştır. Bunlar; üst peritoneal lezyonlar, endometriyoma ve derin infiltratif endometriyozisdir. Anti-Müllerian hormon seviyesi endometriyozis lezyonun büyüklüğü ve şiddeti ile ilişkilidir. Şiddetli endometriyozis prognozuna sahip kadınlar düşük AMH'ye sahiptir.

Bu verilere dayanarak endometriyosizin tek başına granuloza hücrelerinin işlevini değiştirdiği sonucuna varılmıştır. Çoğu araştırmalar, endometriyoma cerrahi müdahalesinden önce veya sonra serum AMH seviyesinin azaldığını göstermiştir ki bunun sebebinin ya cerrahi müdahale ya da endometriyomadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Düşük serum AMH seviyesinin de endometriyoma prognozunu ağırlaştırabildiğini ve AMH'nin kistik endometriyozis hücrelerindeki döngüyü durdurması, apoptozisi ve otofajiyi uyardığı bildirilmiştir (di Clemente et al., 2021).

Moreno-Sepulveda vd. (2022), 36 endometriyozis vakasını analiz etmişler ve operatif müdahaleden kısa, orta ve uzun dönem sonrası AMH seviyelerindeki değişikliği saptamak istemişlerdir. Sonuç olarak operasyon sonrası kısa ve uzun vadede AMH seviyesi azalmasında bir fark olmadığı belirtilmekle beraber 7 cm'den büyük bilateral endometriyoma vakalarındaki serum AMH azalışının, 7 cm'den küçük unilateral endometriyoma vakalarından daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

2.9.3. Anti-Müllerian Hormonun Memedeki Görevi

Anti-Müllerian hormon haricinde, AMHR II mRNA ve proteini insan ve sıçan meme epitel hücrelerinde bulunmaktadır. Sıçanlarda AMH ekspresyonu memenin proliferasyon durumu ile ters orantılıdır. Bu sonuçlara dayanılarak AMH ekspresyonunun kanser hücre apoptozisini teşvik ettiği ve çoğalmasını önlediği yönündedir. Bu etki NF-KB sinyalizasyonu ile ilgilidir; çünkü NF-KB uyarımının önlenmesi AMH aracılı büyüme inhibisyonunu ortadan kaldırır. Bu etki aynı zamanda interferon γ tarafından arttırılır. Bazı AMH hedef genleri bu görev için tanımlanmakla beraber; IEX-1S geni radyasyon tarafından uyarılmaktadır. İnterferon düzenleyici faktör-1 ve Gro- β ise salgı proteinleridir. Bu genlerin hepsi AMH'ye bağlı NF-KB yolu ile ilgilidir. SMAD1 ve NF-KB genleri Gro- β genleri ile ilişkilidir. Bu bilgilerden yola çıkarak, AMH'nin pubertas ve gebelik döneminde meme epitel büyümesi ve farklılaşması üzerinde rol oynadığı fikrine varılmıştır (di Clemente et al., 2021).

2.10. Anti-Müllerian Hormonun Çiftlik Hayvanlarındaki Klinik Kullanımı

İneklerde serum AMH belirlemek için genellikle koksigeal ven/arterden kan alınıp, soğuk zincirde muhafaza edindikten sonra analiz için laboratuvara gönderilir. Her ne kadar Radyo immünoassay (RIA) temel olarak analiz için kullanılsa da enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) günümüzde daha ucuz ve daha güvenilir bir yöntem olmuştur. Sığırlar için geliştirilen çeşitli ELISA testleri mevcut olup; 0,5 ng/ml – 2,40 pg/ml arası ölçülebilir, hassasiyeti 0,04 pg/ml'dir (Alward and Bohlen, 2020).

2.10.1. Anti-Müllerian Hormonun Yaşla İlişkisi

Doğumla birlikte buzağılarda serum AMH değeri düşük iken ilerleyen haftalarda bu değer yükselir, pubertas zamanında pik yapıp daha sonra azalışa geçer. Mossa vd. (2017), melez buzağılarda doğum sonrası serum AMH değerini ölçmek istemişler, 7., 8., 35., 56., ve 86. haftalarda kan almışlardır. Sonuç olarak, 7. haftada ölçülen serum AMH değerini en yüksek olarak bulmuşlar ve daha sonra zamanla azaldığını tespit etmişlerdir. El-Sheikh vd. (2017), benzer bir çalışma yapmışlar; bu sefer daha sık kan örneği almışlar ve 10. haftadaki serum AMH değerinin en yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu iki çalışmada; serum AMH değeri pubertastan itibaren zamanla sabit değere ulaşmıştır.

2.10.2. Anti-Müllerian Hormonun Östrus Siklusuyla İlişkisi

Pubertasa erişmemiş ineklerde büyüme ve gelişme döneminde farklılıklar olmasına karşın pubertasa ulaşan ve normal siklusları başlayan ineklerin siklus dönemleri arasında küçük farklılıklar bulunmaktadır. Souza vd. (2015), östrusları senkronize edilmiş hayvanlarda rastgele bir aşamadan alınan üç numune ile serum AMH'nin siklus dönemlerinden etkilenmeyeceğini kanıtlamışlardır. Rastgele alınan serum AMH değeri 40 ± 3 DIM (ortalama veri bilgisi) iken pro-östrustaki 50 ± 3 DIM ve diöstrustaki ise 57 ± 3 DIM olarak bulunmuştur.

2.10.3. Anti-Müllerian Hormonun Gebelik ile İlişkisi

Bazı çalışmalar ineklerde gebelik ve serum AMH ilişkisini kanıtlar niteliktedir. Monniaux vd. (2012), bununla ilgili bir çalışma yürütmüş, iki buzağılama döngüsü için gebelik ve doğum sonrası 21 Holstein düve ve 21 Holstein ineği çalışmaya almışlardır. Çalışma sonucunda düvelerde gebeliğin ilk üç ayında serum AMH'nin yükseldiği ve daha sonra gebeliğe kadar giderek azaldığı tespit edilmiştir. Doğum sonrası, serum AMH seviyesi giderek azalmakta ve bir dahaki gebeliğe kadar düşük seviyesini korumaktadır. İkinci gebelikte de benzer durum gözlemişlerdir.

2.10.4. Anti-Müllerian Hormonun Laktasyon ile ilişkisi

AMH ve laktasyon ilişkisini gösteren bazı çalışmalar yapılmıştır. Ribeiro vd. (2014), ineklerin 2. ve 3. laktasyonlarının serum AMH seviyesinin doğum öncesi 1. ve 4. üzeri laktasyonlarının serum AMH değerlerinden büyük olduğunu belirtmişlerdir.

2.10.5. Anti-Müllerian Hormonun Irk Faktörüyle İlişkisi

Mossa vd. (2017), yaptıkları çalışmada, 12-16 aylık süt inekleri ve melez besi (Angus x Charolais) ineklerde PGF2 α tedavi sonrası 96. saatte serum AMH miktarını ve trans-rektal ultrasonografi yoluyla ovaryum büyüklüğünü ve folikül sayısını (≥ 3 mm) belirlemek istemişlerdir. Sonuç olarak; sütçü ineklerin ortalama serum AMH konsantrasyonunun, ovaryum büyüklüğü ve folikül sayısının besi ineklerinden daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Batista vd. (2016), benzer çalışmalarında; Nelore (*Bos indicus*) zebu etçi düvelerin serum AMH konsantrasyon seviyesi ve ovaryum antral folikül sayısının Holstein (*Bos taurus*) düvelerinden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Sütçü ırkların serum AMH konsantrasyon miktarları arasında farklılıklar bulunmaktadır ki bu bilgi tartışmalıdır (Mossa et al., 2017). Pfeiffer vd. (2014), Holstein ve Jersey ırklarının ortalama AMH konsantrasyonlarında bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir. Buna karşılık Riberio vd. (2014), yaptıkları çalışmada Jersey ineklerin ortalama serum AMH konsantrasyonunun, Holstein x Jersey ırklarından oluşan melez ineklerden ve Holstein ineklerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu bulgulardan yola çıkılarak; (1) besi ineklerdeki serum AMH konsantrasyonunun sütçü ineklerden daha yüksek olduğu ve (2) Sütçü ineklerin besi ineklere kıyasla nispeten düşük AMH konsantrasyonuna sahip olması, doğal olarak daha küçük bir ovaryum rezervine sahip olabileceği anlamına gelip gelmediği, bunun da besi ineklerine kıyasla sütçü ineklerde daha düşük kısırlığa yol açabileceği kesin bilinmemektedir (Mossa et al., 2017).

Anti-Müllerian hormon ovaryumun sağlıklı gelişen foliküllerinin granuloza hücrelerinden üretilir ve antral folikül sayısı ile güçlü bir ilişkisi olmakla birlikte sığırlarda ovaryum rezervinin belirlenmesinde kullanılır. Hirayama vd. (2019), raporlarına göre serum AMH konsantrasyonu ve *GRIA1* genotipi süperovulasyona sonuçlanmasının tahmin edilmesinde sinerjistik etkiye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Sugimoto vd. (2010), Siyah Japon sığırlarda glutamat iyonotropik reseptör AMPA tipi alt birim-1'in (*GRIA1* ya da *GluRI*) tek nükleotid polimorfizminin, artan ovulasyon sayısı ile korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir.

Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit reseptörleri (AMPA'lar), kortikal uyarılabilirliği modüle ederler. Bu reseptörler, içsel katyon geçirgen kanalları olan ve merkezi sinir sisteminde hızlı sinaptik iletme aracılık eden iyonotropik glutamat reseptörünün alt tipleridir (Zavvari et al., 2020). Glutamat

reseptörleri, beyindeki uyarıcı sinaptik iletimin birincil araçlarıdır (Greger et al., 2017). Alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit reseptörleri (AMPA'lar) kortikal sinir sisteminde bol miktarda bulunur ve kortikal sinir sisteminde geniş çapta dağılım göstermekle beraber; GluR1, GluR2, GluR3 ve GluR4 olmak üzere dört alt birimi vardır (Zavvari et al., 2020). Glutamat iyonotropik reseptör AMPA tipi alt birim-1 (GRIA1), gonadotropin salgılatıcı hormon salınımını kontrol ederek FSH ve LH sekresyonunu düzenler. İnsanlarda GRIA1 geni ile kısırlık arasındaki ilişkiyi araştıran çok az çalışma olmakla beraber, ilgili çalışmaların çoğu sığırlarda yapılmıştır. Ek olarak, sığırlarda yapılan çalışmalar, GRIA1 gen polimorfizminde DNA translasyonu sırasında serin aminoasidi yerine asparagin aminoasidinin gelmesi; gonadotropin salgılayan hormonun salınımının azalması ve defektif ovulasyonuna yatkınlığın artması ile sonuçlanır (Golestanpour et al., 2020).

Polimorfizm ve gen mutasyonları aynı olarak tanımlarsalar da oluşum mekanizmaları birbirinden farklıdır. Bir popülasyonda % 1 veya daha yüksek oranda meydana gelen DNA dizisindeki bir varyasyona polimorfizm denir. Popülasyondaki var olan bu yüksek insidans, polimorfizmin nötr veya faydalı bir etki ile doğal olarak meydana geldiğini göstermektedir. Polimorfizm, tıpkı mutasyonda olduğu gibi bir veya daha fazla nükleotit yer değişikliğinden meydana gelebilir. Tek nükleotit polimorfizm (SNP), insan genomundaki her 1000 baz çiftinde ortaya çıktığı düşünülen en yaygın polimorfizmi içermektedir ve protein kodlayıcı genleri çevreleyen alanlarda bulunur (mikro RNA bağlanan gen/protein ekspresyonunun düzenlenmesi için kritik olarak kabul edilen bölgelerde bulunur). Nükleotit dizisindeki herhangi bir nadir değişiklik, her zaman olmamakla birlikte, genellikle hastalığa neden olursa “mutasyon” olarak adlandırılır. Nükleotit dizisindeki bu değişiklik, fenotipik değişikliklere neden olabilir veya olmayabilir. Mutasyonlar ebeveynlerden genetik olarak aktarılabilir (germ hattı mutasyonları) veya bir bireyin yaşamı boyunca edinilebilir (somatik mutasyonlar). Somatik mutasyonlar kanser gibi insan hastalıklarının ana sebeplerinden biridir. Tek nükleotit polimorfizm hastalıklar da dahil olmak üzere popülasyonlarda belirli özelliklere yatkınlığı incelemek için kullanılan yol gösterici genetik işaretlerdir (Karki et al., 2015). Yapılan araştırmalara göre; tek nükleotit polimorfizmin %50'si kodlanmayan bölgelerde ortaya çıkarken, %25'i yanlış mutasyonlara ve %25'i ise sessiz mutasyondur (Shastri, 2009). Sessiz mutasyonlar, bir genin protein kodlayan bir kısmındaki DNA dizisindeki değişiklik,

proteini oluşturan amino asitlerin dizisini etkilemediğinde meydana gelir (Patel et al., 2019).

Tek nükleotit polimorfizim “sinonim ve sinonim olmayan tek nükleotit polimorfizim” olmak üzere iki çeşittir. Sinonim tek nükleotit polimorfizmin (synonymous SNPs) daha önce gen fonksiyonu ve fenotip üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı bilinmektedir. Bu yüzden onlara “sessiz SNPs” denilmektedir. Ancak son yıllardaki bazı bulgular farklılık göstermektedir. Sinonim olmayan SNP'ler (Nonsynonymous SNPs) sıklıkla hastalıklara neden olup doğal seçilime tabi olabilirler. Tek nükleotitli polimorfizimler, promotör gen aktivitesini (gen ekspresyonu), haberci RNA (mRNA) stabilitesini ve mRNA verimliliğini etkileyebilir. Bu nedenle, bir bireyin hastalıklara karşı duyarlı olmasından ve bünyesel ilaç metabolizmasının düzenlenmesinde etkileri vardır. Ayrıca; uzunluk, kısalık, kıvrıkcık saça sahip olmak gibi fenotipik özellikler ve hastalıkların oluşmasında başka faktörler olsun veya olmasın doğrudan rol oynayabilirler (Shastry, 2009).

Han vd. (2022), Siyah Dazı keçilerinde; AMH, kisspeptin reseptör-I (KISS1R) ve büyüme farklılaşma faktörü-9 (GDF-9) genlerinde bulunan tek nükleotit polimorfizim (SNPs) yapılarını görüntülemek ve keçi yavrularında, bahsi geçen genlerdeki SNPs'lerin korelasyonlarını araştırmışlardır. Bahsi geçen genler yedinci kromozomda bulunmakla birlikte, reproduksiyon için önemli yere sahiptirler. Bu çalışma için yaşları 2,5-4,5 arasında değişen 190 siyah Dazı keçisi kullanılmıştır. Bu keçiler aynı diyet, sürü yönetimine ve çevre koşuluna tabi tutulmuştur. Bu keçilerin birinci, ikinci ve üçüncü doğumlardaki yavru sayıları kaydedilmiştir. Genomik DNA, 190 adet bireysel kan örneğinden standart fenol/kloroform metoduyla elde edilmiştir. Çalışma sonucunda; AMH geninde yer olan tek nükleotitli polimorfizim g.89172108A>C' nin, siyah Dazı keçilerinde ikinci doğan yavruların yavru boyutuyla önemli ölçüde ilişkili olduğu, ancak birinci ve üçüncü yavru boyutuyla ilişkili olmadığı bulunmuştur. Anti-Müllerian hormon, KISS1R ve GDF-9 genlerindeki diğer sekiz SNP ile yavru boyutu arasında anlamlı bir korelasyon gözlenmemiştir. AMH geni içindeki tek nükleotit polimorfizim g.89172108A> ekzonunda yer aldığı ve sinonim olmayan polimorfizim (Nonsynonymous SNPs) özelliğinde olduğu belirlendi. İkinci doğumda doğan, CC genotipine sahip yavru boyutlarının AC genotipli ve AA genotipli yavrulara göre daha büyük ölçüde olduğu; fakat CC ile AA (C; Sitozin, A; Adenin) genotipti yavrular arasındaki büyüklük farkının kayda değer olmadığı belirtilmiştir.

Mutant homozigot CC genotipli yavruların ortalama büyüklüklerinin heterozigot AC genotipinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu polimorfizmin yüksek doğurganlık için faydalı bir mutasyon olabileceği vurgulanmıştır. İkinci doğan yavruların ortalama boyutu ve AMH geninin SNP g.89172108A>C'indeki genotip arasındaki korelasyonu açıklayan iki teori ortaya konulmuştur; (1) kodlama bölgesindeki SNP'den etkilenen yavru boyutu, protein yapısındaki bir değişimden kaynaklanıyor olabileceği, (2) SNP'nin, siyah Dazı keçilerinde yavru boyutunu etkileyebilecek bir mutasyon ile yakın bağlantı içinde olabileceğidir. Sonuç olarak; AMH genindeki sinonim olmayan g.89172108A>C polimorfizmin siyah Dazı keçilerinde yavru boyutuyla önemli ölçüde ilişkili olduğu ve dolayısıyla g.89172108A>C polimorfizmin keçi yetiştirme programlarında potansiyel bir genetik belirteç olarak kullanılabileceği fikri ortaya konulmuştur.

2.11. Anti-Müllerian Hormonun Pet Hayvanlarındaki Klinik Kullanımı

2.11.1. Anti-Müllerian Hormonun Yaş ile İlişkisi

Serum AMH değeri; östrus dönemi, yaş, ırk, kilo, ırk gibi parametrelerden etkilenmektedir. Genç erkek kedilerdeki serum AMH miktarı yüksek iken, pubertas sonrası da kedi ve köpeklerde serum AMH değeri saptanabilir niteliktedir. Köpeklerde pubertastan önce (< 6 ay) serum AMH değeri köpek ELISA testi ile ölçülebilmektedir; fakat > 6 aylıktan itibaren bu test daha güvenilir ve bağımsızdır. Dişi kedilerde en yüksek serum AMH değeri doğumdan itibaren 3 aylık yaşa kadar en yüksek değerde iken bu değer 12 aydan büyük kedilerde oldukça düşüktür. Bu konu hala tartışmaya ve araştırmaya açık bir konudur.

Lapuente vd. 2023, neonatal, pre-pubertal ve postpubertal dişi kedilerde serum AMH düzeyini bulmak istemişlerdir. Çalışma serum AMH ile östrus siklusu ve yaş ilişkisini kapsamıştır. Bu amaçla totalde 68 dişi kediyi çalışmaya almışlar, (n=10) (5'i erkek) neonatal, (n=15) prepubertal ve (n=48) postpubertal olmak üzere gruplandırmışlardır. Yapılan vaginal muayenelerden sonra postpubertal dişi kedilerin; (n=8) foliküler evrede, (n=10) luteal evrede ve (n=18) anöstrus evrede olduğu belirlendi. Post-pubertal dişi kedilerden (n=10) olmak üzere alt grup oluşturuldu. Folikül sayımları Gougeon ve Chainy, (1978) çalışmasına göre belirlendi. Bu gruptaki serum AMH değeri 6,31-0,54 ng/ml olarak tespit edildi. Neonat dişi kedilerin serum AMH değeri neonatal erkek kedilere göre daha düşük seviyede ölçüldü ($2,56 \pm 0,49$ vs. >23 ng/ml). Pre-pubertal kedilerin serum AMH değeri hem neonatal kedilere göre

hem de post-pubertal kedilere göre yüksek çıkmıştır ($11,79 \pm 1,36$ vs. $2,56 \pm 0,49$ vs. $4,87 \pm 0,38$ ng/ml). On iki aylıktan küçük dişi kedilerin en yüksek serum AMH'ye sahip olduğu belirlendi. Foliküler evredeki dişi kedilerin anöstrustaki dişi kedilere göre daha düşük AMH'ye sahip olduğu belirlendi ($2,51 \pm 0,33$ vs $5,46 \pm 0,76$ ng/ml). Ovaryumlar arasında her bir folikül tipinin toplam sayısında fark bulunmadı. Küçük antral folikül ile serum AMH arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Çalışma neticesinde serum AMH'nin ovaryum folikül büyüklüğü ve fonksiyonunu değerlendirmek amacıyla kullanılabilecek bir markır olduğu sonucuna varıldı (Lapuente et al., 2023).

Pir Yağcı vd. (2016), yaşları 6 ay-5 yaş arasında değişen toplam 30 dişi kedide; (1) ovaryohisterektomi öncesi ve sonrası serum AMH düzeyini belirlemek, (2) ovaryohisterektomi sonrası farklı günlerde serum AMH düzeyini saptamak, (3) serum AMH-yaş ilişkisini belirlemek, (4) serum AMH'nin ovaryum kalıntısını belirleyebilecek bir markır olduğunu tespit etmek istemişlerdir. Ovaryohisterektomi operasyonu interöstrus evresinde gerçekleştirilmiştir. Grup (I); < 1 yaş, (n=13) ve grup (II); >1 yaş, (n=17) olmak üzere iki grup oluşturmuşlardır. Alınan anamneze göre birinci grupta 4 kedi haricinde hiçbir kedi ovaryohisterektomi operasyonuna kadar östrus belirtisi göstermemiştir. İkinci grup ovaryohisterektomiden önce en az bir tane belirgin siklus göstermiştir. Serum AMH tayini için operasyon öncesi (0.gün), operasyon sonrası 3.gün ve operasyon sonrası 10.gün *sephalik ven*'den kan alınmıştır. Çalışma sonucunda; tüm kedilerin operasyon öncesi 0. gün ve operasyon sonrası 3. gün ve 10. gün ortalama serum AMH konsantrasyonları; $3,15 \pm 2,25$ ng7/ml, $0,38 \pm 0,21$ ng/ml ve ölçülemeyen seviye olarak tespit edilmiştir. Operasyon öncesi 0. günde ortalama serum AMH konsantrasyonları grup I için $1,86 \pm 1,73$ ng/ml ve grup II için $3,57 \pm 2,28$ ng/ml olarak belirlenmiştir. Operasyon sonrası 3. gün iki grubun da serum AMH konsantrasyonları belirgin bir şekilde düşmüştür. (Grup I; $0,26 \pm 0,20$ ng/ml, grup II; $0,42 \pm 0,20$ ng/ml). Yaş faktörü operasyon öncesi 0. gün ve operasyon sonrası 3. gün ortalama AMH seviyesi ile yüksek oranda korelasyon göstermiştir. Pir Yağcı vd. (2016), bu sonuçlardan yola çıkarak serum AMH seviyesinin her iki grup için operasyon sonrası kademeli olarak azaldığını ve bu sonucunda tek seferlik alınan serum AMH örneğinin ovaryan remnant sendrom teşhisi için kullanılabilecek bir markır olduğunu tespit etmişlerdir. Place vd. (2011), çalışması gibi bu çalışma sonucunda da kedilerin ortalama serum AMH konsantrasyonları köpeklere göre

yüksek çıkmıştır. Ayrıca kedilerdeki primordiyal folikül sayısının diğer memelilere göre yüksek olmasının yüksek serum AMH seviyesini yansıtabileceği düşüncesi ortaya konulmuştur. Serum AMH seviyesinin, farklı östrus evresinde kediler olsa bile östrus evresinden etkilenmediğini ortaya koymuşlardır.

2.11.2. Anti-Müllerian Hormonun Irk Faktörüyle İlişkisi

Köpeklerde ırk-AMH ilişkisini açıklayan iki kaynak bulunmaktadır. Çalışma sonuçlarına göre; büyük ırklardaki serum AMH değeri küçük ırklara göre daha düşük seviyededir. En yüksek AMH değeri Beagle ırkında bulunmaktadır (Walter, 2020). Walter vd. (2019a), gebe olmayan dişi köpeklerde tüm östrus siklusu boyunca serum AMH değerini saptamak istemişlerdir. Bu çalışma yaşları 1-6 ve ağırlıkları 10-28 kg arasında değişen 10 Beagle ırkı, 10 Labrador ırkı olmak üzere toplam 20 köpeği çalışmaya almışlardır. Çalışma sonucunda östrustaki doğum yapmamış köpeklerin serum AMH değerlerinin (0,19-1,45 ng/ml), kısırlaştırılmış dişilerden (0,01-0,06 ng/ml, $p<0,001$) yüksek olduğu bulunmuştur. Beagle ırkı köpeklerin serum AMH değerinin Labrador ırkından yüksek olduğu (0,09-2,65 ng/ml) tespit edilmiştir; fakat bireysel farklılıklar mevcuttur. En yüksek serum AMH değerlerine, kızgınlığın başlamasından önceki son üç haftadan başlayıp ovulasyon öncesi altıncı güne kadar olan süreyi kapsarken, en düşük serum AMH değeri ovulatör östrus, metöstrus ve anöstrus evresinde tespit edilmiştir. Kayda değer serum AMH azalması ise, östrus-metöstrus geçiş dönemi ve anöstrüsün ortası olarak belirlenmiştir.

2.11.3. Anti-Müllerian Hormonun Ovaryan Remnant Sendromu Teşhisinde Kullanımı

Ovaryohistektomi hem uterus hem de ovaryumun ortadan kaldırılması için yapılan cerrahi işlemdir. Bu prosedür hormonal dengesizliklerin önüne geçmek ve genital hastalıkları tedavi etmek amacıyla uygulanır. Ovaryan remnant sendrom (ORS), cerrahi işlem sırasında ovaryumundan parça kalması ve bu parçanın abdomende revaskülarizasyon sağlayıp işlevine devam etmesidir. Bu sebeple kediler östrus, köpekler ise pro-östrus belirtileri gösterirler. Anamnez alma, vaginal sitoloji, serum LH analizi, ultrasonografi ve deneysel laparotomi hem kedi hem de köpekler için geleneksel teşhis yöntemleri arasındadır; fakat bu yöntemler pahalı ya da çok zaman alabilmektedir. Anti-Müllerian hormon değeri bilateral ovaryektomi yapılan kadınlarda belirlenememiştir. Bu bilgi doğrultusunda serum AMH'nin ORS için iyi bir teşhis alternatifi olabileceğini düşündürmüştür. Yılmaz vd. (2015), dişi köpekte ORS ile ilgili çalışma yapmışlardır. Grupları dörde ayırmışlardır; grup I, (n=10), 4-6

aylık, kısırlaştırılmamış ve pre-pubertal evredeki dişi köpeklerden, grup II, (n=10) daha önceden çiftleşmiş ve 1,5-13 yaşları arasında olan, grup III, (n=9), 6 ay önce kısırlaştırılmış ve 1,5-11 yaş aralığında, grup IV, ise (n=17), 2-14 yaş arasında olup daha önce kısırlaştırılmış ama östrus davranışları göstermiştir.

Kan tayininde AMH, progesteron ve östrojen parametrelerine bakılmıştır. Vaginal sitoloji bulguları ve serum progesteron-östrojen sonuçları ile birlikte değerlendirilip siklus dönemine karar verilmiştir. Sonuç olarak kısırlaştırılmış grupta serum AMH değerinin en düşük olduğu bulunmuştur. Siklus dönemi farklılığına karşın serum AMH, progesteron ve östrojen arasında korelasyon belirlenememiştir. Yaş ortak değişken olarak istatistik tablosuna doğrusal model olarak yansıtılmış olup, önemsiz sayılmıştır (Yılmaz et al., 2015). İnsanlarda gebelik boyunca serum AMH'nin stabil ya da arttığı bilinmekte ve bunun erken doğum ile ilişkili olduğu bilinmektedir; fakat kadınlarda gebelik boyunca yaş faktörünün serum AMH'yi nasıl etkilediği henüz bilinmemektedir.

2.11.4. Anti-Müllerian Hormonun Gebelik ile İlişkisi

Kedilerde gebelik boyunca serum AMH konsantrasyonuna ilişkin çok az sayıda çalışma mevcuttur. Gültiken vd. (2022), gebe ve gebe olmayan kedilerde AMH ve onun reseptörü olan AMHRII'nin ovaryum ekspresyonunu ve serum AMH ile korelasyonunu tespit etmişlerdir. Bu amaçla 6 grup oluşturmuşlardır. Gruplar gebelik yaşı ve siklus dönemine göre belirlenmiştir. Grup I (n=3), 23-30 günlük gebe, embriyonal aşamada (yüksek progesteron üretimi) bulunan kedilerden, grup II (n=8), 31-40 günlük gebe, fetal aşamada olan (intraplasental progesteron seviyesinin artması), grup III (n=4), 41-50 günlük gebe kedilerden (intraplasental progesteron üretimi azalması, korpus luteumun regrese olmaya başlaması ve serum progesteron seviyesinin azalması), grup IV (n=6), 51-61 günlük gebe kedilerden oluşan (doğum öncesi dönem, plasenta PGF2 α 'nın önemli ölçüde artması, final luteolizisin başlaması), grup V (n=6) interöstrus döneminde bulunan kediler ve grup VI (n=6) östrus dönemi kedilerinden oluşmuştur. Sonuç olarak grup III'de AMH'nin sekonder ve antral foliküllerinin granuloza hücrelerinde ve korpus luteumun intersitisyel hücrelerinde büyük oranda immünopozitif olarak görülmüştür. Yalnızca grup II'de korpus luteum sayısı ile AMH arasında pozitif korelasyon gözlenmiştir. Atrezik foliküllerin intersitisyel hücrelerinde AMH ve AMHRII yakın ve güçlü bir yerleşim göstermiştir. AMHRII miktarı gebelik dönemlerinde farklılık göstermemiştir; fakat

östrus dönemine göre yüksek bulunmuştur. Serum AMH miktarı ve ovaryum AMHRII miktarının gebeliğin 30-50 günlerinde fazla olması ovaryum aktivitesi ve foliküler atrezi ile ilişkilendirilmiştir.

Lapuente vd. 2023, neonatal, pre-pubertal ve postpubertal dişi kedilerde serum AMH düzeyini bulmak istemişlerdir. Çalışma serum AMH ile östrus siklusu ve yaş ilişkisini kapsamıştır. Bu amaçla (n=10) (5'i erkek) neonatal, (n=15) prepubertal ve (n=48) postpubertal dişiyi çalışmaya almışlardır. Daha sonra postpubertal dişi kediler (n=8) foliküler evrede, (n=10) luteal evrede ve (n=18) anöstrus evrede olduğu belirlendi. Post-pubertal dişi kedilerden (n=10) olmak üzere alt grup oluşturuldu. Bu gruptaki serum AMH değeri 6,31-0,54 ng/ml olarak tespit edildi. Neonat dişi kedilerin serum AMH değeri neonatal erkek kedilere göre daha düşük seviyede ölçüldü ($2,56 \pm 0,49$ vs. >23 ng/ml). Pre-pubertal kedilerin serum AMH değeri hem neonatal kedilere göre hem de post-pubertal kedilere göre yüksek çıkmıştır ($11,79 \pm 1,36$ vs. $2,56 \pm 0,49$ vs. $4,87 \pm 0,38$ ng/ml). On iki aylıktan küçük dişi kedilerin en yüksek serum AMH'a sahip olduğu belirlendi. Foliküler evredeki dişi kedilerin anöstrustaki dişi kedilere göre daha düşük AMH'ye sahip olduğu belirlenmiştir ($2,51 \pm 0,33$ vs $5,46 \pm 0,76$ ng/ml).

Ovaryumlar arasında her bir folikül tipinin toplam sayısında fark bulunmamıştır. Küçük antral folikül ile serum AMH arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ($r=0,85$). Çalışma neticesinde serum AMH'nin ovaryum folikül büyüklüğü ve fonksiyonunu değerlendirmek amacıyla kullanılabilecek bir markır olduğu sonucuna varıldı.

2.11.5. Ovaryum Rezervi ve Anti-Müllerian Hormon İlişkisi

Dünya çapında evcil kedilerin köpeklerde olduğu gibi pet hayvanı olarak bakılması gün geçtikçe popülerliğini arttırmaktadır. Büyükşehirlerdeki evlerin %35'inin kedi sahibi olduğu düşünülmektedir. Kediler aynı zamanda beşeri hastalıklar ve nesli tükenmekte olan vahşi kedilerde kullanılan yardımcı üreme teknikleri teknolojisi için değerlendirilebilecek mükemmel bir modeldir. Ne yazık ki kedilerde serum AMH ve ovaryum folikül ilişkisini açıklayan az sayıda çalışma bulunmaktadır (Lapuente et al., 2023).

Lapuente vd. (2023), yaptıkları çalışmada; serum AMH konsantrasyonunun neonatal, pre-pubertal ve post-pubertal kedilerdeki miktarını belirlemek, yaş ve östrus evresinin serum AMH üzerindeki etkisini değerlendirmek ve yetişkin kedilerdeki serum AMH ve ovaryum folikülü arasındaki korelasyonu tespit etmek istemişlerdir. Çalışma için (n=10) (5'i erkek neonat) neonatal, (n=15) pre-pubertal ve (n=48) post-

pubertal olmak üzere 68 dişi kediden oluşmuştur. Post-pubertal kediler daha önce çiftleşmemiştir. Östrus evresi ve kedilerin pubertasa ulaşp ulaşmadığını belirlemek için günde 1,5 saat gözlem ve iki günde bir olmak üzere vaginal smear alınmıştır. Post-pubertal kedilere ek olarak gebelik muayenesi yapılmıştır. Ovaryum folikül sınıflandırmasında; primordiyal folikül (tek katlı yassı ya da yassı küboidal granuloza epitel hücreleriyle çevrili oosit içeren folikül), primer (tek katlı küboidal granuloza hücreleri ile çevrili oosit içeren folikül), sekonder (iki ya da daha fazla küboidal granuloza ile çevrili oosit içeren folikül), antral (küçük antral boşluk, bozulmamış granuloza ve teka hücre katmanları içeren folikül) ve atretik (dejenere granuloza hücreleri, apoptotik nükleus, eozinofilik zona pelusida, kalınlaşmış internal teka katmanı ve foliküler sıvıda debris içeren folikül) olarak beşe ayırmışlardır.

Çalışma grubundaki bütün kedilerden bir kere kan alınmıştır. Gebe olmayan (n=10) post-pubertal kedilerden oluşturulan alt grup daha sonra kısırlaştırılmıştır. Muayeneler sonucu (n=10) neonatal (5'i erkek, 4-8 aylık), (n=15) pre-pubertal (≥ 12 aylık) ve (n=48) post-pubertal kedi (7-60 aylık) olarak belirlenmiştir. Post-pubertal dişi kedilerden oluşan grubun (n=7)'i foliküler evrede, (n=10)'u luteal evrede, (n=18)'i anöstrus evresinde olduğu ve luteal evredeki kedilerin (n=7)'nin 25-32 günlük gebe olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonucunda; pre-pubertal kedilerin serum AMH seviyesinin post-pubertal ve neonatal kedilerden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Yaş-AMH ilişkisinin belirtilmesinde < 12 aylık kedilerin serum AMH konsantrasyonunun > 12 aylık kedilerin ortalama serum AMH konsantrasyonundan daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Foliküler fazda olan kedilerin ortalama serum AMH konsantrasyonunun anöstrus dönemindekinden daha yüksek olduğu, gebe kedilerin ve gebe olmayan luteal fazdaki kediler arasında serum AMH konsantrasyonu açısından önemli bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir. Her iki ovaryum arasında her bir folikül tipi ortalama sayısında fark bulunmamış ve kedilerde küçük antral folikül ve serum AMH arasında yüksek bir korelasyon olduğu belirtilmiştir.

Son yirmi yıl içinde, kedilerde yardımcı üreme teknikleri alanında çok yol alınmış; fakat kedi oositlerinde *in vitro* maturasyon başarısı bireysel ve değişken olmuştur. Snoeck vd. (2017), 33 kediye oosit maturasyonu ve yaş ilişkili çalışma yapmışlardır. Grup I 0-3 aylık pre-pubertal, grup II 3-12 aylık peri-pubertal, grup III ise > 12 ay yaşı kapsayan pubertal evreden oluşmuştur. Kumulus-oosit kompleksleri (COC'ler) olgunlaştırılmış ve ardından nükleer olgunlaşma durumunu kontrol etmek

için boyanıp, AMH analizi için kan alınmıştır. Sonuç olarak ortalama serum AMH değerleri ilk gruptan başlayarak 18,71 µl, 9,27 µl ve 4,3 µl olduğunu bu bulgu ile yaşla birlikte serum AMH miktarının azaldığını tespit etmişlerdir. Toplam 1.231 kumulus oosit kompleksinden 460'ı olgunlaşmış, bunun %15,8'i grup I'e, %43,4'ü grup II'ye, %57'i grup III'e ait olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak serum AMH seviyesinin artmasıyla birlikte oosit maturasyonunun azaldığı belirlenmiştir.

Anadol vd. (2020), daha önce çiftleşmemiş yaşları 1,5-2,5 yaşlarında, toplam 16 diöstrus ve anöstrus evresindeki dişi köpeklerde; (1) serum AMH ile ovaryum folikül sayıları arasındaki korelasyonu tespit etmek, (2) serum AMH konsantrasyonunu kısırlaştırma öncesi ve sonrası ölçmek istemişlerdir. Serum AMH analizi yapmak için operasyon öncesi (post-op 0. gün), operasyon sonrası 1., 5. ve 10. günlerde kan almışlardır. Folikül sınıflandırması için Songsagen ve Wildt (2007), çalışması baz alınmış olup foliküller; primordiyal, primer, sekonder, erken antral ve antral olarak sınıflandırılmıştır. Bahsi geçen çalışmaya göre; primordiyal folikül tek katlı yassı epitel ile çevrelenmiş zona pelusida içermeyen oositten oluşur. Primer folikülde; tek katlı küboidal epitel hücreleri ve belirgin bir zona pelusida içeren oosit bulundurmaktadır. Sekonder folikülde ise oositin etrafında çok katlı granuloza hücreleri bulunmaktadır. Erken antral folikülde; granuloza hücreler arasında erimeler başlayarak antrum denilen boşluk ya da iki veya daha fazla kompartıman içeren segmentli boşluk oluşur. Antral folikülde; antrum tek ve büyük bir boşluk halini almaktadır. Çalışma sonucunda; operasyon öncesi 0. günde grup (I) ve grup (II)'nin sırasıyla serum AMH konsantrasyonlarının $5,5 \pm 0,9$ ng/ml ve $5,8 \pm 1,5$ ng/ml, operasyon sonrası 1. gün için $2,9 \pm 2,3$ ve $3,1 \pm 1,1$ ng/ml ve operasyon sonrası 5.gün için $1,6 \pm 1,6$ ng/ml ve $1,9 \pm 1,5$ ng/ml olduğu belirlenmiştir. Sıfırıncı gündeki serum AMH konsantrasyon değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlenirken, 1. ve 5. gündeki AMH konsantrasyonlarının 0. gündeki değerinden oldukça düşük olduğu saptanmıştır. Grup I ve grup II'nin folikül sayımları sonucunda; primordiyal folikül sayıları $216,3 \pm 153,1$ ve $195,6 \pm 156,5$, primer folikül sayıları $91,8 \pm 32,1$ ve $89,5 \pm 33,1$, sekonder folikül sayıları $85,3 \pm 34,6$ ve $61,8 \pm 33,8$, erken antral folikül sayıları $16,6 \pm 8,3$ ve $13,8 \pm 10,4$ iken antral folikül sayıları $5,1 \pm 4,8$ ve $6,4 \pm 3,3$ olarak sayılmıştır. Grup I için sekonder folikül sayısı ile serum AMH arasında önemli derece pozitif korelasyon belirlenirken antral folikül sayısı ile negatif

korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Grup II için ise serum AMH ile sekonder ve erken antral folikül sayısı arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir.

Flock vd. (2022), yaşları 1-3 arasında, ortalama ağırlığı 2,8-4,2 kg olan toplam 7 dişi kedide östrus evresi ile serum AMH arasındaki korelasyonu bulmak istemişlerdir. Çalışma grubunun (n=4) daha önce doğum yapmış yetişkin kediler olduğu ve bir arada yaşadığı bilinmektedir. Bu kedilerin (n=3) daha önce siklus göstermemiş, 1 yaşlı kedilerden oluşmuştur ve genç kedi olarak adlandırılmışlardır (D,E,F). Yapılan ultrasonografik ve vaginal sitoloji muayeneleri sonucu (n=1) kedi asiklik, n=(1) kediye gebe olarak belirlemişlerdir. Serum AMH için kan örnekleri siklusun başlama tarihinden 1-2 sonra ve 2-5 gün gibi kısa aralıklarda, daha sonra metöstrus evresinde geniş aralıklarda alınmıştır. Gebe kedi (G), östrus evresinde ve östrus evresinden 3, 5, ve 7 gün sonra gözlenmiş olup 34. gün ultrasonografik muayene yapılmıştır. Asiklik kedi (F), nisan ve mayıs aylarında on kez gözlenmiştir. Sonuç olarak; yetişkin A, B ve C kedileri iki kere spontan ovulasyon geçirmiş daha sonra metöstrus ve interöstrus evrelerini geçirmişlerdir. Genç D ve E kedileri sadece interöstrus evresini geçirmişlerdir. Sonuç olarak bütün kedilerin ortalama serum AMH değeri sırasıyla en fazla anöstrus, metöstrus ve interöstrus evrelerinde olmuştur. B ve C yetişkin kedilerde siklus boyunca serum AMH düzeyinde belirgin dalgalanma olmuştur. A kedisinin serum AMH profili B ve C kedilerine benzese de anöstrustaki serum AMH seviyesi diğerlerinden fazladır. Genç kedilerin (D,E) anöstrus serum AMH seviyesi, yetişkin kedilere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Genç E kedisinin serum AMH seviyesi yetişkin kedilerle karşılaştırılabilir olsa da interöstrustaki AMH seviyesi yetişkin kedilere göre daha fazla olup, en yüksek AMH seviyesi ise anöstrusda olduğu saptanmıştır. Genç D kedisi, bütün siklus evrelerinde diğer kedilerden daha yüksek AMH seviyesine sahip olmuştur. Flock vd. (2022), serum AMH seviyesinin östrusda düşük çıkmasını; dominant folikül seçilimi aşamasında AMH seviyesinin azalması olarak açıklamışlardır. Genç kedilerde folikülogenezis, kedilerin siklus evre geçişlerindeki AMH hormonal dalgalanmasının, yetişkin kedilere göre daha belirgin ve güçlü olmasına sebep olmuştur. Flock vd. (2002), bunun sebebinin; genç kedilerin interöstrustaki yüksek serum AMH konsantrasyon dağılımından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Forcada vd. (1991), köpek ve koyunlarda, foliküllerdeki yeterli miktarda hormon üretimi ve düzenli östrus siklusu için belli bir geçiş dönemi olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca Wildt vd.

(1981), köpeklerin ilk siklusunda hormonal düzensizliğin ve yetersizliğin sebep olduğu, uzun proöstrus evresi ve anovulasyon gibi patolojilere sebep olabileceğini bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Kliniği'ne Aralık 2020-Haziran 2022 tarihleri arasında sahiplerinin kısırlaştırma isteği üzerine getirilen ve yaşları 1-2 arasında değişen; melez (n=6), British Shorthair (n=6), tekir (n=12), Siyam (n=1), Schottish Fold (n=2) ırkından oluşan toplam 27 sağlıklı dişi kedi çalışmaya alındı. Gruplar seksüel siklusun östrus (grup I, n=15) ve interöstrus (grup II, n=12) evresindeki kedilerden oluştu. Östrus evresindeki kedilerin ortalama ağırlığı $3,05 \pm 0,28$ kg, interöstrus evresindeki kedilerin ortalama ağırlığı ise $3,25 \pm 0,66$ kg olarak belirlendi. Kedilerin sağlıklı olup olmadığı fiziksel ve hematolojik muayenelerden sonra belirlenip fizyolojik sınırlar içinde bulunmayanlar çalışmaya alınmadı. Ardından ultrasonografi ile genital organ muayenesi yapıldı ve herhangi bir patolojik durumu bulunan veya gebe olan kediler çalışmaya alınmadı. Preoperatif evrede V. sefalika antebrahidenden düz tüpe alınan kan örnekleri, 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Elde edilen serumlar analiz yapılana kadar -20° C'de saklandı. Bu tez çalışması Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından 2020/56 kabul numarasıyla onaylanmıştır.

3.2. Sitolojik Muayene

İlk olarak perianal bölge dezenfekte edildi. Steril swap %0,9'luk izotonik solüsyonuna tabi tutuldu. Daha sonra non-steril bir swap ile vaginanın kraniyalindeki hücrelerden smear örneği alındı. Bu amaçla; swap vaginaya yerleştirildikten sonra 2-3 kez kendi etrafında dairesel çevirilerek vagina duvarından smear örneği temin edildi. Daha sonra alınan iki tane örnek, steril birer lama yayılarak kuruması beklendi. Alınan smearler Papanicolaou boyamaya tabi tutuldu (Chantziantoniou et al., 2017). Boyama işlemi sonrası x4'lük ve x10'luk büyüklükteki mikroskop sahasında 100 hücre sayılarak östrus evresine karar verildi. Östrus evresine karar verilirken Mills vd. (1979) yaptığı çalışma baz alındı.

Dişi kedilerde, vaginadan dökülen epitel hücrelerinin morfolojisi serum östrojen konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir ve bu nedenle siklus tayininde kullanılabilmektedir. Smear alınırken vagina tavanından yaklaşık 0,5 cm kranialinden serum fizyolojik ile hafif ıslatılmış pamuklu çubuk kullanmak suretiyle temin edilmektedir (Johnston et al., 2001). Siklus evrelerine göre hücrelerin yüzdesel

dağılımları göz önüne alındığında; proöstrus evresinde foliküler evrenin ilk günü çekirdeksiz süperfisiyal hücrelerde % 10'luk bir artış meydana gelmektedir. Çekirdekli süperfisiyal hücreler % 20-30'luk dilimde sabit kalırlar. Nadiren eritrosit gözlemlenebilir. İntermediyer ve parabazal hücre sayılarında ise düşüş meydana gelmektedir. Östrus evresinde çekirdekli süperfisiyal hücreler baskındır. Yüksek oranda çekirdekli ve çekirdeksiz süperfisiyal hücre sayıları karşımıza çıkar. Oransal olarak % 0,3 (% 0-3) parabazal hücreler, % 11,6 (% 0-25) intermediyer hücreler, % 4,7 (% 0-10) nötrofiller, % 63,6 (% 5-90) çekirdekli süperfisiyal hücreler ve % 24 (% 5-95) oranında çekirdeksiz süperfisiyal hücreler görülmektedir. İnteröstrus evresinde yoğunluklu olarak intermediyer hücre ağırlıktadır. Vaginal smear örneklerinde % 8,9 (0-29) parabazal, % 75 (50-100) intermediyer, % 13,2 süperfisiyal, % 1,9 (0-3) çekirdeksiz süperfisiyal hücre, % 32 (1-78) nötrofilden meydana gelmektedir İlerlemiş diöstrus (geç metöstrus) evresinde ağırlıklı olarak nötrofil, debris ve köpük hücreleri (foam) karşımıza çıkar. Vaginal smearde % 48 (10-85) parabazal, % 50 (10-85) intermediyer, % 2 (0-5) çekirdekli süperfisiyal hücre ve % 0 çekirdeksiz süperfisiyal hücreden meydana gelmektedir. Anöstrus evresinde ise hormonlar bazal seviyededir. Vaginal sitolojide % 9,7 (% 0-50) parabazal hücre, % 87,4 (% 50-100) intermediyer hücre, % 2,7 (% 0-22), çekirdekli süperfisiyal hücre, % 0,2 (% 0-2) çekirdeksiz süperfisiyal hücre ve % 3 (% 0-50) nötrofillerden oluşmaktadır (Mills et al., 1979). Sunulan tez çalışmasında, sitolojik değerlendirme yapılırken, yukarıda bahsedilen çalışmadan yararlanılmıştır.

3.3. Operasyon Tekniği

Ovaryohisterektomi anestezisi için inhalasyon anestezisi çalışmaya alındı. Anestezi için propofol ile indüksiyon yapılp, sonrasında izofluran ile sürdürüldü. Operasyon hastası entübe edilmeden önce %1'lik propofol 6-8 mg/kg'dan hesaplanarak intravenöz şekilde verildi. Göz ventromedial olarak döndükten sonra, çene tonusu ve palpebral refleksleri yaklaşık 10-12 saniyelik aralıklarla değerlendirilmiş olup, bu süre içinde, indüksiyon ilacının uygulama hızı, çene tonusu ve palpebral refleksin yokluğu gözlenene kadar devam ettirildi. İstenilen anestezi sağlanınca uygun boyutta (iç çap genişliği 2,5-3 mm) kaflı bir tüple entübasyon girişiminden önce larinksin duyarsızlaştırılması için lidokain (Lidokain % 2 w/v; Antigen Pharmaceuticals) çalışmaya alındı. Entübasyonun yapılamadığı durumda indüksiyon ilacı 0,5 mg/kg ek doz verilerek entübasyon tekrarlandı. Anestezi, bir Ayre

T-parçası aracılığıyla 500 ml/kg/dakika akış hızında % 100 oksijen içinde verilen izofluran (IsoFlo; Abbott) ile sürdürüldü. Buharlaştırıcıdaki izofluran başlangıçta % 2 olarak ayarlandı. Anestezi derinliği düzenli olarak (5 dakikada bir) değerlendirildi ve konsantrasyon buna göre sürdürüldü. Bu değerlendirme kapsamında; palpebral refleks, çene tonu, kulak hareketi tepkisi, nabız ve solunum hızı baz alınmıştır.

Operasyon sırasında analjezi ve sıvı idamesini sağlamak için CRI (sabit oranlı infüzyon) çözeltisi hazırlandı. Sürekli infüzyon çözeltisi hazırlamak için 100 ml % 0,09'luk izotonik solüsyonunun içine ketamin (Ketasol® % 10 enjeksiyonluk çözelti) 0,3–0,5 mg/kg ile butorfanol (Butamidol® 10 mg/ml) 0,1-0,2 mg/kg ilave edildi ve dozu 10 ml/kg/sa'ten hesaplanarak iv (damar içi) verildi. Operasyonda ise rutin ovaryohisterektomi operasyonu yapılarak her iki kornu uteri ve her iki ovaryum uzaklaştırıldı. Deri ensizyonunun ardından subkutan doku ve linea alba ensize edilerek, karın boşluğuna ulaşıldı. Daha sonra ovaryumlar ve kornu uteriler bulunduktan sonra mezovaryum ve serviks uterinin kaudaline USP 2/0 numara emilebilir dikiş materyalleri ile ligatür konuldu ve mezovaryumdaki ligatürün 0,5-1 cm kaudalinden eğri makasla mezovaryum kesildi. Diğer ovaryum da aynı şekilde ligatüre edilerek uzaklaştırılmadan önce sağ ve sol ovaryum ayırt edildi, sağ ovaryumdaki ipek iplik uzun bırakıldı. Mezovaryumdan sonra serviks uteriye bir ligatür konuldu ve ligatürün kaudalinden kesilerek uterus uzaklaştırıldı. Ovaryohisterektomi operasyonunu takiben alınan her iki ovaryum da % 10'luk formaldehit solüsyonunda saklandı. Operasyon sırasında ve operasyon sonrası 6.saat ve operasyon sonrası 24. saatte olası sıvı kaybını takviye etmek amacıyla damar içi % 0,9'luk izotonik solüsyon verildi. Daha sonra iki günde bir olmak üzere pansuman değişimi yapıldı. Operasyon günü 8,75 mg/kg dozdan hesaplanarak synulox® bir kere deri altı olarak uygulandı. Daha sonra Largopen® 125 mg/5 ml oral süspansiyon, 25 mg/kg'dan hesaplanarak bir haftalık kullanım için reçete edildi. Operasyon öncesi ve sonrası bütün işlemler önceden hazırlanan hasta takip formuna yazılıp kontrol edildi (Şekil 3.1.).

HASTA TAKİP FORMU

Tarih:

Hasta sahibi:

Hasta adı:

Protokol numarası:

❖ Operasyon Öncesi Kontrol Edilecekler Listesi;

1) Fiziksel muayene

- Dehidrasyon:

- CRT:

- Solunum:

- Genel durum:

- Vücut ısısı:

- Nabız:

2) Hastada bilinen alerji geçmişi:

3) İşemik kalp hastalığı geçmişi:

4) Serovasküler hastalık geçmişi:

5) Zor entübasyon ya da aspirasyon riski:

7) Cerrahi işlem onayı:

8) Cerrahi ekipman tamamlandı mı (ipek iplik, 2/0 PGA vs...)

9) Doğru hasta ve uygun prosedür:

10) Doğru pozisyon (mediyan hat):

11) Onam işlemleri tamamlandı, doğrulandı ve imzalandı:

12) Operasyon alanı cerrah tarafından işaretlendi:

13) Anestezî güvenliği tamamlandı:

14) Entübe edildi:

15) Profilaksik antibiyotik uygulandı:

16) Pre-op düz tüpe ve hemogram tüpüne kan alındı mı:

17) Pulse oksimetre hastada takılı ve fonksiyonda:

❖ Operasyon Sonrası Kontrol Edilecekler Listesi;

1) Bilinç düzeyi:

- Bilinç kapalı

-Bilinç açık, refleksler normal

- Ajiite

2) Ekstremiteleri:

3) Vücut ısısı:

- Hipotermi

- hipertermi

- normal sınırlar içerisinde

4) Sindirim ve üriner sistem bulguları:

- mide bulantısı ve vomitus:

- diyare:

- konstipasyon:

- hernaluri:

- normal seyrinde:

5) Respiratorik sistem bulguları:

- taşikardi:

- bradikardi:

-hipoksi:

- normal:

6) Sıvı Takviyesi:

- Operasyon sırasında:

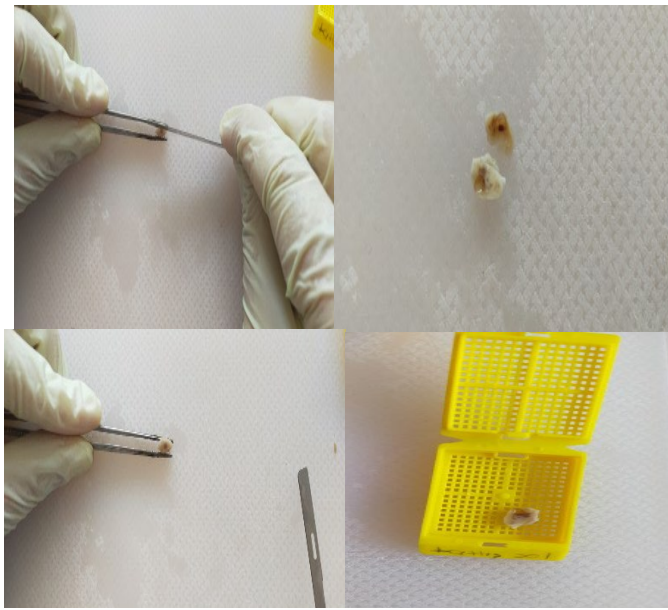
- Post-op 6. saat:

-Post-op. 24.saat:

Şekil 3.1. Hasta takip formu

3.4. Histopatolojik Yöntem

Ovaryumlardaki korpus luteum sayısı makroskopik olarak kaydedildikten sonra, ovaryumlar longitudinal olarak ikiye bölünüp parafin mumu içine gömüldü (Şekil 3.2.) ve daha sonra 5µm'lik seri kesitler (ovaryum başına ortalama 50 dilim) halinde dilimlenerek hematoxilen ve eozin boyamaya tabi tutuldu. Her onuncu kesit ışık mikroskobu (Eclipse E600, Nikon, İstanbul, Türkiye) altında gözlemlendi. Kesitler X 1000'lik büyütmede ışık mikroskobu ile analiz edilerek folikül sayımı yapıldı. Aynı folikülü birden fazla saymamak için sadece nükleolusu olan foliküller seçildi.



Şekil 3.2. Tez hastasından alınan longitudinal olarak ikiye bölünüp parafin mumu içine gömülmesi, (Tez hastası: Tatlış)

Foliküller; primordiyal, primer, sekonder, erken antral ve antral foliküller olmak üzere sınıflandırıldı. Kesit başına 3.500 mm²'lik bir alan (ovaryum başına 5 kesit; 10., 20., 30., 40. ve 50.) x 60'luk büyütmede değerlendirildi. Daha sonra ortalama folikül ve korpus lutea sayısı belirlendi. Sınıflandırma yönteminde folikül morfolojisi için Songsagen ve Wildt. (2007) literatürü baz alındı. Sınıflandırmaya göre; primordiyal folikül tek katlı yassı epitel ile çevrelenmiş zona pelüsida içermeyen oositten oluşur. Primer folikülde, tek katlı küboidal epitel hücreleri ve belirgin bir zona pelusida içeren oosit bulunmaktadır. Sekonder folikülde ise oositin etrafında çok katlı granuloza hücreleri bulunmaktadır. Erken antral folikülde, granuloza hücreler arasında erimeler başlayarak antrum denilen boşluk ya da iki veya daha fazla kompartıman içeren

segmentli boşluk oluşur. Antral folikülde, antrum tek ve büyük bir boşluk halini alır. Folikül büyüklüklerinin sayısal verileri (Tablo 3.1.)’de verilmiştir (Reynaud et al., 2009).

Tablo 3.1. Folikül tipleri ve oosit büyüklüklerinin sayısal verileri (Reynaud et al., 2009).

Folikül Tipleri (μm)	Folikül Genişliği (+ Zona pelüsida- μm)	Oosit Genişliği (μm)	Zona pelüsida kalınlığı (μm)
Primordiyal	$44,3 \pm 0,8^a$ (33,8–62,5)	$40,5 \pm 0,8^a$ (30,0–56,3)	0^a
Primer	$86,2 \pm 1,8^b$ (58,8–110,0)	$63,8 \pm 1,4^b$ (4,8–82,5)	0^a
Sekonder	$126,0 \pm 2,2^c$ (86,3–158,8)	$86,2 \pm 1,8^c$ (58,8–107,5)	$2,7 \pm 0,1^b$ (1,3–4,4)
Erken Antral	$223,8 \pm 5,3^c$ (163,8–340,0)	$108,1 \pm 1,6^c$ (81,3–126,3)	$3,4 \pm 0,1^c$ (1,9–5,6)

3.5. Serum Anti-Müllerian Hormon Ölçümü

Östrus ve interöstrus gruplarındaki kedilerin serumunda AMH düzeyi kediye özgü enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) test kiti (201-28-3514, Sunred Biological Technology Co. Ltd., Shanghai, China) ile ölçüldü. ELISA analizlerinin gerçekleştirilmesinde üretici firmanın önerdiği prosedür takip edildi. Kitin ölçüm aralığı 0,05 ng/ml-10 ng/ml olup ölçüm hassasiyeti 0,046 ng/ml idi. Öncelikle kitte hazır olarak bulunan 6,4 ng/ml’lik ana standarttan sulandırma gerçekleştirilerek 3,2 ng/ml, 1,6 ng/ml, 0,8 ng/ml ve 0,4 ng/ml’lik AMH standartları hazırlandı. Mikroplakadaki kuyucuklar, AMH standartları, kör ve numuneler için işaretlendi. Standartlar için 5 kuyucuk, kör için 1 kuyucuk hazırlandı. Diğer kuyucuklar serum örnekleri için işaretlendi. AMH standartlarından 50’şer μl standart kuyucuklarına pipetlendi. Serum kuyucuklarına 40’ar μl serum örnekleri pipetlendikten sonra 10’ar μl AMH-antikoru eklendi. Mikroplakanın tüm kuyucuklarına 50 μl streptavidin-HRP pipetlendikten sonra üzeri şeffaf film ile kaplanarak 37° C’de 1 saat bekletildi. Mikroplakadaki sıvı aspire edilerek çok kanallı pipetle her kuyucuğa 350 μl yıkama

solüsyonu pipetlendi ve mikrolaka emici kağıt üzerine ters çevrilerek hafif vurma hareketiyle tüm kuyucuklardan sıvının tamamen boşaltılması gerçekleştirildi. Yıkama aşaması iki kez tekrar edildi. Mikrolakanın tüm kuyucuklarına önce 50 µl kromojen solüsyonu A ve sonra 50 µl kromojen solüsyonu B pipetlendi. Mikrolaka hafifçe çalkalanarak 37° C'de 10 dakika karanlıkta tutuldu. Süre sonunda bütün kuyucuklara 50'şer µl durdurma solüsyonu eklendi ve kuyucukların mavi olan rengi sarıya dönüştü. Mikrolakada oluşan rengin absorbansı 15 dakika içinde mikrolaka okuyucuda (Infinite F50, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) 450 nm'de ölçüldü. Serum örneklerinde AMH düzeyleri mikrolaka okuyucudaki programa kaydedilen AMH standartlarının konsantrasyonuna göre hesaplandı. AMH düzeyleri ng/ml olarak sunuldu.

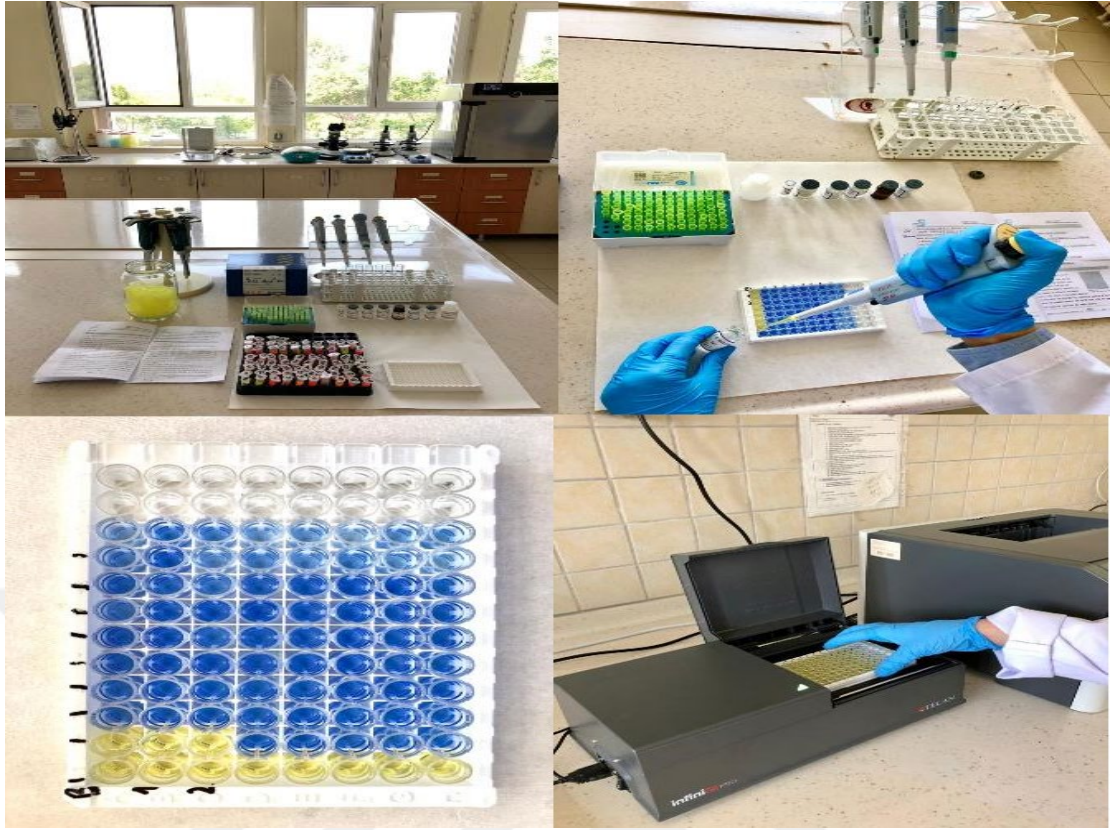
3.6. Serum Progesteron Ölçümü

Östrus ve interöstrus gruplarındaki kedilerin serumunda progesteron düzeyi kediye özgü enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) test kiti (201-28-0243, Sunred Biological Technology Co. Ltd., Shanghai, China) ile ölçüldü. ELISA analizlerinin gerçekleştirilmesinde üretici firmanın önerdiği prosedür takip edildi. Kitin ölçüm aralığı 1 ng/ml-300 ng/ml olup ölçüm hassasiyeti 0,847 ng/ml idi. Öncelikle kitte hazır olarak bulunan 160 ng/ml'lik ana standarttan sulandırma gerçekleştirilerek 80 ng/ml, 40 ng/ml, 20 ng/ml ve 10 ng/ml'lik progesteron standartları hazırlandı. Mikrolakadaki kuyucuklar, progesteron standartları, kör ve numuneler için işaretlendi. Standartlar için 5 kuyucuk, kör için bir kuyucuk hazırlandı. Diğer kuyucuklar serum örnekleri için işaretlendi. Progesteron standartlarından 50'şer µl standart kuyucuklarına pipetlendi. Serum kuyucuklarına 40'ar µl serum örnekleri pipetlendikten sonra 10'ar µl progesteron antikoru eklendi. Mikrolakanın tüm kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP pipetlendikten sonra üzeri şeffaf film ile kaplanarak 37° C' de bir saat bekletildi. Mikrolakadaki sıvı aspire edilerek çok kanallı pipetle her kuyucuğa 350 µl yıkama solüsyonu pipetlendi ve mikrolaka emici kağıt üzerine ters çevrilerek hafif vurma hareketiyle tüm kuyucuklardan sıvının tamamen boşaltılması gerçekleştirildi. Yıkama aşaması iki kez tekrar edildi. Mikrolakanın tüm kuyucuklarına önce 50 µl kromojen solüsyonu A ve sonra 50 µl kromojen solüsyonu B pipetlendi. Mikrolaka hafifçe çalkalanarak 37° C'de 10 dakika karanlıkta tutuldu. Süre sonunda bütün kuyucuklara 50'şer µl durdurma solüsyonu eklendi ve kuyucukların mavi olan rengi sarıya dönüştü. Mikrolakada oluşan rengin absorbansı

15 dakika içinde mikrolaka okuyucuda (Infinite F50, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) 450 nm'de ölçüldü. Serum örneklerinde progesteron düzeyleri mikrolaka okuyucudaki programa kaydedilen progesteron standartlarının konsantrasyonuna göre hesaplandı. Progesteron düzeyleri ng/ml olarak sunuldu.

3.7. Serum Östrojen Ölçümü

Östrus ve interöstrus gruplarındaki kedilerin serumunda östrojen düzeyi kediye özgü enzim bağlı immünosorbent analiz (ELISA) test kiti (201-28-0206, Sunred Biological Technology Co. Ltd., Shanghai, China) ile ölçüldü. ELISA analizlerinin gerçekleştirilmesinde üretici firmanın önerdiği prosedür takip edildi. Kitin ölçüm aralığı 0,6 pg/ml -180 pg/ml olup ölçüm hassasiyeti 0,584 pg/ml idi. Öncelikle kitte hazır olarak bulunan 96 ng/ml'lik ana standarttan sulandırma gerçekleştirilerek 48 pg/ml, 24 pg/ml, 12 pg/ml ve 6 pg/ml'lik östrojen standartları hazırlandı. Mikrolakadaki kuyucuklar, östrojen standartları, kör ve numuneler için işaretlendi. Standartlar için 5 kuyucuk, kör için 1 kuyucuk hazırlandı. Diğer kuyucuklar serum örnekleri için işaretlendi. Östrojen standartlarından 50'şer µl standart kuyucuklarına pipetlendi. Serum kuyucuklarına 40'ar µl serum örnekleri pipetlendikten sonra 10'ar µl östrojen-antikoru eklendi. Mikrolakanın tüm kuyucuklarına 50 µl streptavidin-HRP pipetlendikten sonra üzeri şeffaf film ile kaplanarak 37° C' de 1 saat bekletildi. Mikrolakadaki sıvı aspire edilerek çok kanallı pipetle her kuyucuğa 350 µl yıkama solüsyonu pipetlendi ve mikrolaka emici kağıt üzerine ters çevrilerek hafif vurma hareketiyle tüm kuyucuklardan sıvının tamamen boşaltılması gerçekleştirildi. Yıkama aşaması iki kez tekrar edildi. Mikrolakanın tüm kuyucuklarına önce 50 µl kromojen solüsyonu A ve sonra 50 µl kromojen solüsyonu B pipetlendi. Mikrolaka hafifçe çalkalanarak 37° C' de 10 dakika karanlıkta tutuldu. Süre sonunda bütün kuyucuklara 50'şer µl durdurma solüsyonu eklendi ve kuyucukların mavi olan rengi sarıya dönüştü. Mikrolakada oluşan rengin absorbansı 15 dakika içinde mikrolaka okuyucuda (Infinite F50, Tecan Austria GmbH, Grödig, Austria) 450 nm'de ölçüldü. Serum örneklerinde östrojen düzeyleri mikrolaka okuyucudaki programa kaydedilen progesteron standartlarının konsantrasyonuna göre hesaplandı. Östrojen düzeyleri ng/ml olarak belirlendi. Tez çalışmalarında gerçekleştirilen ELISA analizlerine ait görseller görülmektedir (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. ELISA analizlerine ait görseller.

3.8. İstatistiksel Analiz

Tez çalışmasından elde edilen bulguların istatistiksel analizleri IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile gerçekleştirildi. Verinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. İkili grup karşılaştırmasında normal dağılım gösteren sayısal veride Student-t testi, normal dağılmayan veride Mann-Whitney *U* testi gerçekleştirildi. Kedilerin folikül sayıları ile AMH, progesteron ve östrojen düzeyleri arasındaki korelasyon Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu

4. BULGULAR

4.1. Hemogram Bulguları

Gruplar arasında hemogram bulguları karşılaştırılmış ve anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 4.1.) ($P > 0,05$).

Tablo 4.1. Grup I ve Grup II'nin detaylı hemogram tablosu.

Hemogram Tablosu	Grup I (Östrus grubu)	Grup II (İnteröstrus grubu)
	Ort $\pm$ s.s.	Ort $\pm$ s.s.
WBC ($10^9/L$)	7,2 $\pm$ 3,3	9,89 $\pm$ 4,05
NEU ($10^9/L$)	3,77 $\pm$ 1,95	5,84 $\pm$ 3,77
LYM ($10^9/L$)	2,55 $\pm$ 1,57	3,02 $\pm$ 1,49
MON $10^9/L$	0,1 $\pm$ 0,06	0,18 $\pm$ 0,19
EOS $10^9/L$	0,75 $\pm$ 0,24	0,86 $\pm$ 0,75
BAS $10^9/L$	0,01 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,01
NEU (%)	0,49 $\pm$ 0,16	0,564 $\pm$ 0,166
LYM (%)	0,344 $\pm$ 0,11	0,33 $\pm$ 0,162
MON (%)	0,014 $\pm$ 0,009	0,018 $\pm$ 0,01
EOS (%)	0,123 $\pm$ 0,046	0,09 $\pm$ 0,057
BAS (%)	0,001 $\pm$ 0,003	0 $\pm$ 0
RBC ($10^{12}/L$)	9,01 $\pm$ 2,6	9,02 $\pm$ 1,5
HGB (g/dL)	13,27 $\pm$ 3,74	13,39 $\pm$ 1,45
HCT (%)	0,37 $\pm$ 0,1	0,36 $\pm$ 0,04
MCV (fL)	40,83 $\pm$ 3,36	40,48 $\pm$ 3,31
MCH (pg)	14,74 $\pm$ 1,09	15,01 $\pm$ 1,11
MCHC (g/L)	361,4 $\pm$ 9,29	371,08 $\pm$ 14,05
RDW-C (%)	0,17 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,01
RDW-S (fL)	28,61 $\pm$ 2,44	28,29 $\pm$ 3,42
PLT ($10^9/L$)	276,47 $\pm$ 111,98	252,5 $\pm$ 77,58
MPV (fL)	11,73 $\pm$ 1,36	11,8 $\pm$ 1,17
PDW (Adet)	14,62 $\pm$ 0,58	14,48 $\pm$ 0,34
PCT (ml/L)	3,07 $\pm$ 1,34	2,98 $\pm$ 0,92

4.2. Sitolojik Bulgular

Gruplar arasında vaginal sitoloji hücreleri değerleri karşılaştırılmıştır. Buna göre grup II'nin parabazal hücre sayısı, büyük intermediyer hücre sayısı, küçük intermediyer hücre sayısı ve eritrosit sayısı daha yüksek iken, süperfisiyal hücre sayısı daha düşük bulundu (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Grup I ve grup II'nin Sitolojik Bulguları, Mann Whitney U Testi. Tüm örneklerde Nötrofil sayısı 0 olduğu için karşılaştırmalara dahil edilmemiştir.

Vaginal Sitoloji Hücreleri (Ortalama 100 hücre başına düşen miktar)	Grup I (Östrus grubu) Ort $\pm$ s.s	Grup II (İnteröstrus grubu) Ort $\pm$ s.s.
Parabazal hücre sayısı	0,33 $\pm$ 1,05	11,25 $\pm$ 21,32
Geniş intermediyer hücre sayısı	5,8 $\pm$ 7,16	31,33 $\pm$ 29,49
Küçük intermediyer hücre sayısı	5,47 $\pm$ 9,27	43,58 $\pm$ 27,1
Süperfisiyal hücre sayısı	61,47 $\pm$ 30,33	0 $\pm$ 0
Keratinize süperfisiyal hücre sayısı	26,13 $\pm$ 30,39	12 $\pm$ 14,45
Eritrosit sayısı	0,13 $\pm$ 0,52	1,75 $\pm$ 3,22

4.3. Fiziksel Muayene Bulguları

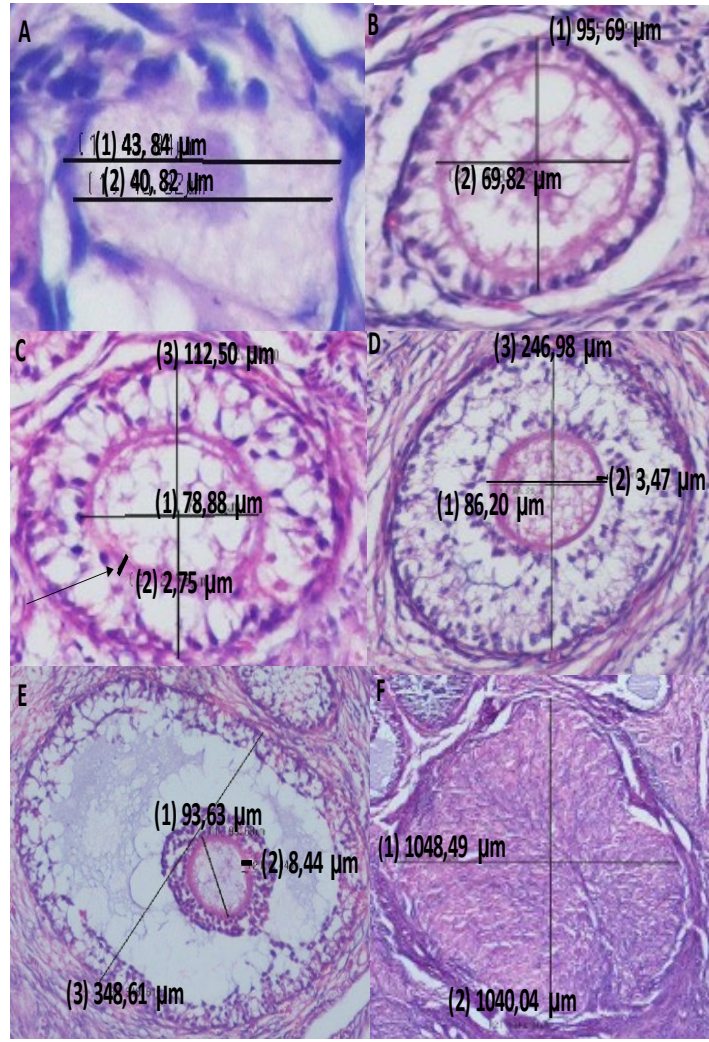
Gruplar arasında fiziksel muayene bulguları karşılaştırılmış ve anlamlı fark olmadığı görülmüştür (Tablo 4.3.) ($P > 0,05$).

Tablo 4.3. Grup I ve Grup II'nin Fiziksel Muayene Sonuçları, Mann Whitney U Testi. Tüm örneklerde Dehidrasyon %5-7, CRT 2 ve Genel durum N olduğu için karşılaştırmalara dahil edilmemiştir.

Fiziksel Muayene Bulguları	Grup I (Östrus grubu)	Grup II (İnteröstrus grubu)
	Ort $\pm$ s.s.	Ort $\pm$ s.s.
Solunum	48,27 $\pm$ 12,23	47,67 $\pm$ 8,08
Vücut Isısı	38,05 $\pm$ 1	38,51 $\pm$ 0,5
Nabız	141,87 $\pm$ 19,29	145 $\pm$ 23,95
Kilo (kg)	3,05 $\pm$ 0,28	3,25 $\pm$ 0,66

4.4. Histopatolojik ve Endokronolojik Bulgular

Folikül, oosit ve zona pelusida çap ölçümleri için Reynaud vd. (2009) baz alındı (Şekil 4.1.). Primordiyal folikül büyüklüğü ortalama 44,3 μm , oosit büyüklüğü ortalama 40,5 μm 'dir. Primer folikül büyüklüğü ortalama folikül büyüklüğü 86,2 μm iken ortalama oosit büyüklüğü 63,8 μm 'dir. Sekonder folikül büyüklüğü ortalama 126 μm olup, oosit büyüklüğü ise ortalama 86,2 μm 'dir. Erken antral folikül büyüklüğü ise ortalama 223,8 μm olup ortalama oosit büyüklüğü 108,1 μm 'dir.



Şekil 4.1. Resim A; tez hastası; Mia, primordiyal folikül, sağ ovaryum-1.kesit, x40, (1); folikül çapı, (2); oosit çapı, Resim B; tez hastası; Boncuk, primer folikül, sol ovaryum-3.kesit x20, (1); folikül çapı, (2); oosit çapı, Resim C; tez hastası; Badem, sekonder folikül, sol ovaryum-3.kesit, x20, (1); oosit çapı, (2); zona pelusida çapı, (3); folikül çapı, Resim D; tez hastası; Boncuk, erken antral, sol ovaryum-3.kesit, x20, (1); oosit çapı, (2); zona pelusida çapı, (3); folikül çapı, Resim E; tez hastası; Badem, antral folikül, sol ovaryum-3.kesit, x10, (1); oosit çapı, (2); zona pelusida çapı, (3); folikül çapı, Resim F; tez hastası; Duman, regrese korpus luteum, sol ovaryum-4.kesit, x4, (1) ve (2); folikül çapı.

Östrus (grup I) ve İnteröstrus (grup II) gruplarına ait folikül sayıları (Tablo 4.4.) ile AMH, progesteron ve östrojen düzeyleri (Tablo 4.5.) aşağıdaki tabloda sunulmuştur.

Tablo 4.4. İnteröstrus ve östrus gruplarına ait folikül sayıları.

Folikül Tipleri	Gruplar	
	Grup I (Östrus grubu)	Grup II (İnteröstrus grubu)
Primordiyal	213,8 ± 99,9	168,3 ± 136,5
Primer	75,0 ± 46,2	57,7 ± 29,0
Sekonder	52,3 ± 50,9	40,9 ± 25,2
Erken Antral	1,5 ± 2,5	1,3 ± 1,3
Antral	2,4 ± 1,8	3,1 ± 1,8
Preantral	341,1 ± 172,9	266,9 ± 158,4
Korpus Luteum	3,2 ± 2,3	3,0 ± 1,4

*: p<0,01, **: p<0,001 (Student t testi).

Tablo 4.5. İnteröstrus ve östrus gruplarına ait AMH, progesteron ve östrojen düzeyleri.

Hormonlar	Gruplar	
	Grup I (Östrus grubu)	Grup II (İnteröstrus grubu)
AMH (ng/ml)	1,4 ± 0,5**	3,1 ± 1,2
Progesteron (ng/ml)	0,5 ± 0,1**	0,87 ± 0,1
Östrojen (pg/ml)	58,4 ± 13,6*	42,3 ± 11,4

*: p<0,01, **: p<0,001 (Student t testi).

Östrus grubundaki (grup I) ve interöstrus grubundaki (grup II) kedilerin folikül sayıları ile AMH, progesteron ve östrojen düzeyleri arasındaki korelasyon aşağıdaki tabloda sunuldu (sırasıyla Tablo 4.6. ve Tablo 4.7.). Östrus grubundaki (grup I) kedilerin serum AMH konsantrasyonu ile primordiyal ($r^2=0,714$, $p<0,01$) ve pre-antral ($r^2=0,588$, $p<0,01$) folikül sayıları arasında önemli pozitif korelasyon olduğu belirlendi ($p<0,01$) (Tablo 4.6.). İnteröstrus grubundaki (grup II) kedilerin folikül sayıları ile serum AMH konsantrasyonu arasında korelasyon olmadığı belirlendi ($p>0,05$) (Tablo 4.7.).

Tablo 4.6. Grup I'deki (östrus grubu) folikül sayıları ile serum AMH, progesteron ve östrojen korelasyonları.

Grup I	Primordiyal	Primer	Sekonder	Erken antral	Antral	Preantral	KL	AMH	Progesteron	Östrojen
Primordiyal	1	,603*	,648**	-,356	-,037	,931**	,161	,714**	-,124	,065
Primer	,603*	1	,647**	,025	,098	,804**	,585*	,309	,051	,301
Sekonder	,648**	,647**	1	-,226	,454	,840**	,138	,309	,126	,312
Erken antral	-,356	,025	-,226	1	,197	-,267	,099	-,026	,002	-,322
Antral	-,037	,098	,454	,197	1	,137	,075	,006	,305	-,344
Preantral	,931**	,804**	,840**	-,267	,137	1	,288	,588**	-,020	,206
KL	,161	,585*	,138	,099	,075	,288	1	-,042	,167	,148
AMH	,714**	,309	,309	-,026	,305	,588**	-,042	1	-,263	-,089
Progesteron	-,124	,051	,126	,002	,305	-,020	,167	-,263	1	-,260
Östrojen	,065	,301	,312	-,322	-,344	,206	,148	-,089	-,260	1

*p<0,05, *p<0,01 (Pearson korelasyon testi).

Tablo 4.7. Grup II'deki (interöstrus grubu) folikül sayıları ile serum AMH, progesteron ve östrojen korelasyonları.

Grup II	Primordiyal	Primer	Sekonder	Erken antral	Antral	Preantral	KL	AMH	Progesteron	Östrojen
Primordiyal	1	,228	,302	,305	,119	,941**	,627*	-,049	-,575	-,024
Primer	,228	1	,747**	-,296	,506	,498	,169	-,182	-,436	-,221
Sekonder	,302	,747**	1	-,012	,713**	,565	,384	-,212	-,550	-,143
Erken antral	,305	-,296	-,012	1	,228	,245	,562	,045	,130	,145
Antral	,119	,506	,713**	,228	1	,366	,346	,016	-,415	-,539
Preantral	,941**	,498	,565	,245	,366	1	,675*	-,047	-,695*	-,117
KL	,627*	,169	,384	,562	,346	,675*	1	,476	-,559	,149
AMH	-,049	-,182	-,212	,045	,016	-,047	,476	1	-,172	,074
Progesteron	-,575	-,436	-,550	,130	-,415	-,695*	-,559	-,172	1	,196
Östrojen	-,024	-,221	-,143	,145	-,539	-,117	,149	,074	,196	1

*p<0,05, *p<0,01 (Pearson korelasyon testi).

5. TARTIŞMA

Anti-Müllerian hormon dönüştürücü büyüme ailesine ait olup adını erkek cinsiyet farklılaşmasındaki rolü (Müller kanallarını geriletmesi) üzerinden almıştır. Günümüzde ovaryum rezervini yansıtan en iyi serum markırı olarak bilinmektedir. Ovaryumda, primer folikülden başta olmak üzere erken antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salgılanır. Folikül stimulan hormon etkili folikül seçiminden sonra AMH ekspresyonu kaybolur, ancak preovulatuvar foliküllerin kumulus hücrelerinde bir miktar ekspresyon kalır. Ayrıca atrezik foliküllerde ve korpus luteumda ekspresyonu bulunmamaktadır (Moolhuijsen and Visser, 2020).

AMH yaş, cinsiyet, siklus evresi gibi birçok unsurdan etkilenmektedir. Bu farklılığı oluşturan bir başka konu ise türler arası ırk farklılığıdır. İnsanlarda bu konu üzerinde birçok çalışma yapılmaktadır. Köpeklerde bu konu ile ilgili iki çalışma bulunmaktadır. Hollinshead vd. (2017), büyük ırklardaki serum AMH konsantrasyonunun küçük ırklara göre daha düşük olduğunu belirlemişlerdir. Walter vd. (2019b), yaptıkları çalışmalarda ise Beagle ırkı köpeklerin ortalama serum AMH değerinin Labrador melez ırkından daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Kedilerde ise doğrudan ırk ve AMH ilişkili çalışma bulunmamaktadır.

Fonksiyonel açıdan AMH, folikül uyarıcı hormonun (FSH), primordiyal folikül üzerindeki büyüme ve gelişme için uyarıcı etkisini negatif geri bildirim ile ortadan kaldırmaya çalışmaktadır. Anti-Müllerian hormon FSH'nin preantral ve erken antral foliküllere karşı duyarlılığını azaltarak, foliküler gelişmeyi baskılamaya çalışmakta ve dominant folikül seçimini engellemeye çalışıp; ovaryum rezervinin tükenmesinin önüne geçmeye çalışmaktadır. Küçük foliküller büyüyüp gelişmeye başladığı zaman ise serum AMH seviyesi azalır ve gelişen foliküller FSH'ye karşı duyarlı hale gelir (Yurci ve Güngör, 2021). Çalışmamızda serum AMH düzeyinin östrus ve interöstrus gruplarında sırasıyla $1,4 \pm 0,5$ ng/ml ve $3,1 \pm 1,2$ ng/ml olduğu kaydedildi ($p < 0,001$). Bu bulgu FSH ile AMH arasındaki ters korelasyonu destekler niteliktedir; çünkü serum FSH seviyesi interöstrusun sonunda dominant folikülün atreziye olup foliküler evreye geçiş evresinde artmakta iken interöstrusta bazal seviyede bulunmaktadır.

Kedilerde ovulasyon genellikle provake olduğu için serum LH seviyesi ise çiftleşme sayısı ile doğru orantılıdır. Östrus evresinde yeterli çiftleşme sayısı sonucu oluşan LH dalgasından yaklaşık 24-48 sonra ovulasyon meydana gelmektedir. Luteinizan hormon foliküllerin nihai olgunlaşmasını sağlayıp ovulasyonu sağlar. Anti-

Müllerian hormon seviyesi ise dominant folikül seçim zamanına doğru azalmaktadır. Bu veri serum AMH ile LH arasında negatif korelasyon olduğunu gösterir; fakat çalışmamızda serum FSH ve LH miktarı ölçülmemiştir. Çalışmamızda östrus grubundaki kedilerin serum AMH konsantrasyonu ile primordiyal ($r^2=0,714$, $p<0,01$) ve preantral ($r^2=0,588$, $p<0,01$) folikül sayıları arasında önemli pozitif korelasyon olduğu belirlendi. Östrus grubunda pre-antral folikül sayısı ve sekonder folikül sayısı arasında önemli bir pozitif korelasyon tespit ettik. Aynı şekilde östrus grubunda primordiyal, primer ve sekonder foliküllerin pre-antral folikül sayısı arasında önemli bir pozitif korelasyon olduğunu belirledik ($p<0,001$). Atlarda, kadınlarda, ineklerde, anöstrus köpeklerinde aynı şekilde pozitif korelasyon bulunmuştur (Pankhurst, 2017). İnteröstrus grubunda ise sekonder ve antral folikül grubu arasında pozitif korelasyon belirledik ($p<0,001$). İnteröstrus evresinde östrojen 20 pg/ml'nin altına olup, serum FSH ve LH bazal seviyeye yakındır. Serum FSH, ve serum AMH arasında negatif korelasyon vardır. Çalışmamızda interöstrus grubundaki serum AMH değerinin yüksek olması bu bilgiyle örtüşmektedir.

Lapiente vd. (2023), toplam 68 çiftleşmemiş kediye çalışmaya almışlardır. Ayrıca erkek kedileri ($n=5$) dişi neonatal kedilerle karşılaştırmak istemişlerdir. Grup dağılımı açısından ($n=10$), 4-8 aylık neonatal (5'i dişi, 5'i erkek), ($n=15$), > 12 haftalık, pre-pubertal ve 48 post-pubertal dişi kediler ve AMH arasındaki korelasyonu bulmak istemişlerdir. Yaşları 7-60 ay olan 48 post-pubertal kedinin ($n=7$) östrus, ($n=10$) luteal evrede, ($n=18$) anöstrus evresinde olduğu belirlenmiş, ($n=7$) kedinin ise gebe olduğu ultrasonografi ile doğrulanmıştır. Siklik kediler için östrus evresindeki kedilerin serum AMH değerinin anöstrus kedilerinin serum AMH değerinden daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. İnteröstrus hormon profili açısından anöstrusa benzediği için, biz de çalışmamızda Lapiente vd. (2023), çalışmasına benzer bir sonuç elde ettik. Foliküller dominant folikül olmaya yakın serum AMH değerleri azalmaktadır. Antral folikül serum AMH seviyesi erken antral ve pre-antral folikül AMH seviyesine göre daha düşük miktardadır. Bu bulgu çalışmamızdaki bulguyla örtüşmektedir; fakat çalışmamızda her iki grubun folikül sayıları arasında farklılık yoktur.

Flock vd. (2022), yaşları 1-3 arasında olan, ortalama ağırlığı 2,8-4,2 kg olan toplam 7 dişi kedide östrus evresi ile serum AMH arasındaki korelasyonu bulmak istemişlerdir. Çalışma grubu ($n=4$) daha önce doğum yapmış yetişkin kedilerdir.

Kedilerin bir arada yaşadığı bilinmekte ve genç kedilerin üçü daha önce siklus göstermemiştir. Yapılan ultrasonografik ve vaginal sitoloji muayeneleri sonucu (n=1) kedi asiklik, (n=1) kediye gebe olarak belirlemişlerdir. Yetişkin kediler daha önce 2 kere spontan ovulasyon geçirmiş daha sonra metöstrus ve interöstrus evrelerini geçirmişlerdir. Genç kediler sadece interöstrus evresini geçirmişlerdir. Sonuç olarak bu literatürde en düşük AMH düzeyi östrus evresinde bulunmuştur. En fazla AMH düzeyi ise sonraki döngüye başlamadan sekiz hafta önce anöstrusta olduğu belirtilmiştir. Bunun nedenini dominant folikül gelişiminden önce serum AMH azalmasıyla ilgili olabileceğini belirtmişlerdir. Bu bulgu çalışmamız ile örtüşmektedir. Ayrıca Flock vd. (2022), 1 yaşlı kedilerin serum AMH konsantrasyonlarının, 2 yaşlı kedilere göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Genç kedilerde folikülogenezis, kedilerin siklus evre geçişlerindeki AMH hormonal dalgalanmasının, yetişkin kedilere göre daha belirgin ve güçlü olmasına sebep olmuştur. Flock vd. (2022), bunun sebebinin; genç kedilerin interöstrustaki yüksek serum AMH konsantrasyon dağılımından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki kediler de 1-2 yaşları kapsamaktadır; fakat yaş gruplandırılması yapılmamıştır.

Tez bulgularımızın sonuçları arasında; folikül sayıları bakımından östrus ve interöstrus grupları arasında istatistiki bir fark bulunamamış olmasına rağmen östrus grubundaki serum AMH değerinin, interöstrus serum AMH değerinden daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Serum AMH'nin ovaryum pre-antral ve antral foliküllerinden salgılandığı bilinmektedir. Gruplardaki folikül sayılarının aynı değerde olmasına karşın, serum AMH değerlerinin farklı olması ilgi çekici bir sonuçtur. Çoğu in-vitro ve in-vivo yapılan çalışmalarda, östrojenin foliküler gelişme fazında AMH ve AMHR-II mRNA değerlerini azalttığı bilinmektedir. Grynberg vd. (2012), insanda östrojenin, farklı folikül aşamalarındaki AMH ekspresyonu üzerinde farklı etkilere sahip olmasının, iki farklı östrojen nükleer reseptörünün (ESR) seviyelerindeki farklılığa bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. ESR-I/ESR-II sonucunun < 1 olması durumunda inhibitör etkinin olduğunu belirtmişler, bunu da foliküler evrenin sonlarına doğru granuloza hücrelerinden en fazla ESR-II eksprese edilmesi ve FSH tarafından uyarılan östrojenin serum AMH seviyesini azalttığını tespit etmeleriyle ifade etmişlerdir. Bu teoriyle uyuşan bir bulgu ise kültür ortamına daha fazla FSH'nin eklenmesiyle birlikte, östrojenin FSH'nin mural granuloza hücrelerine olan uyarımını azalttığı bulgusudur. Hayes vd. (2016), serum AMH'nin foliküllerin FSH'ye olan duyarlılığını azaltmasını,

AMH uyarımlı mikroRNA'ların eksprese edilmesiyle açıklamışlardır. Özellikle miR-181a ve miR-181b'nin granuloza hücre içi mekanizmasını inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Serum AMH-FSH arasındaki ters mekanizma, çalışmamızdaki östrus grubunun serum AMH seviyesinin daha az olmasını destekler niteliktedir.

Bunun aksine Gültiken vd. (2022), bu çalışmadakine benzer şekilde interöstrus ve östrustaki kedilerde folikül sayıları arasında fark bulamamışlar; ayrıca gruplar arasında serum AMH ve AMHR-II seviyelerinde fark tespit etmemişlerdir. Serum AMH ile FSH arasındaki ters korelasyon durumu PKOS'da görülmektedir. Polikistik over sendromunda bu durum; pre-antral ve küçük antral foliküllerin FSH'ye cevap verecek olgunluğa ulaşmamış olmaları dolayısıyla foliküllerdeki AMH konsantrasyonunun arttırabileceği görüşüdür (Moreno-Sepulveda et al., 2022). Düvelerde serum AMH'nin ön hipofizden FSH salınımını arttırdığı; fakat LH'ye etki etmediği bilinmektedir (Kereilwe et al., 2018).

Anadol vd. (2020), daha önce çiftleşmemiş yaşları 1,5-2,5 yaşlarında, toplam 16 diöstrus ve anöstrus evresindeki dişi köpeklerde; (1) serum AMH ile ovaryum folikül sayıları arasındaki korelasyonu tespit etmek, (2) serum AMH konsantrasyonunu kısırlaştırma öncesi ve sonrası ölçmek istemişlerdir. Serum AMH analizi yapmak için operasyon öncesi (post-op 0. gün), operasyon sonrası 1., 5. ve 10. günlerde kan almışlardır. Çalışma sonucunda, grupların 0. gündeki serum AMH değerlerinde ve folikül sayıları arasında fark bulamamışlardır. Gruplar arasındaki folikül sayılarında fark olmaması çalışmamız ile benzerlik göstermektedir.

Nagashima vd. (2016), toplam 5 köpekte yaptıkları çalışmada en yüksek serum AMH değerinin pro-östrus evresinin başında olduğunu belirtirken, LH salgılanmasına yakın, giderek azaldığını ve bazal seviyeye indiğini belirtmişlerdir. Proöstrustaki AMH seviyesinin artışının antral folikül artışına bağlı olduğunu, daha sonra bazal seviyeye inmesinin ise folikül grubunun eş zamanlı olarak seçilip pre-ovulatr aşamaya gelmesi ve daha sonra regrese olması olarak yorumlamışlardır. Serum AMH siklus boyuncaki iniş ve çıkışının erken antral sayısı ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise serum AMH yalnızca östrus grubundaki pre-antral ve primordiyal folikül sayısı ile korelasyonu mevcuttur. Kedilerde ise daha çok provake ovulasyon görülmekle birlikte yeterli çiftleşme sayısı kanda yeterli LH konsantrasyonunu sağlayıp son çiftleşmeden 24-48 saat sonra (ilk çiftleşme zamanına göre değişir) nihai folikül olgunlaşmasını ve akabinde ovulasyonu meydana getirip,

pre-ovulator foliküllerin oluşmasını sağlar. Bunun dışında kedilerde spontan ovulasyon da gerçekleşebilmektedir. Kedilerde, köpeklerden farklı olarak pro-östrus evresi daha kısa sürmekte ve köpeklerinki kadar belirgin değildir. Bu çalışma proöstrus evresini kapsamamıştır. Bundan sonraki çalışmalarda, pro-östrus evresinde serum AMH düzeyini saptamak için çalışmalar sürdürülecektir.

Axner ve Holst (2015), yaşını bilmedikleri 31 dişi kedi ve 27 erkek kedinin kısır olup olmadığını ve ortalama yaşlarını saptamak adına, GnRH testi yapmışlardır. Ayrıca testin serum AMH değerine olan etkisini araştırmak istemişlerdir. Çalışma sonucunda serum östrojen değeri artmakla birlikte östrojen ve progesteron AMH'yi etkilememiştir. Benzer şekilde Rico vd. (2011), ineklerde serum AMH seviyesinin terminal folikül gelişmesinden etkilenmediğini belirtmişlerdir.

Snoeck vd. (2017), toplam 33 kedide oosit maturasyonu ve yaş ilişkili çalışma yapmışlardır. Grup I 0-3 aylık pre-pubertal, grup II 3-12 aylık peri-pubertal, grup III ise > 12 ay yaşı kapsayan pubertal evreden oluşmuştur. Kumulus-oosit kompleksleri (COC'ler) olgunlaştırılmış ve ardından nükleer olgunlaşma durumunu kontrol etmek için boyanıp, AMH analizi için kan alınmıştır. Sonuç olarak yaşla birlikte serum AMH miktarının azaldığını tespit etmişlerdir. Toplam 1.231 kumulus oosit kompleksinden 460'ı olgunlaşmış, bunun %15,8'i grup I'e, %43,4'ü grup II'ye, %57'i grup III'e ait olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak serum AMH seviyesinin artmasıyla birlikte oosit maturasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Uchikura vd. (2011), inaktif, foliküler, luteal ve prepubertal evrede bulunan toplam 22 dişi kedide, östrus evresinin oosit maturasyonuna olan etkisini bulmak istemişlerdir. Antral folikülleri de kendi içlerinde üç gruba ayırmışlardır. Sonuç olarak; gruplarda toplam folikül sayıları arasında fark bulamamışlardır. Oosit büyüklüğü ile maturasyon yeteneğinin, folikül büyüklüğü ile arttığını belirtmişler, farklı östrus evrelerinde bulunan yetişkin kedilerin benzer maturasyon oranına sahip olduklarını ortaya koymuşlardır. Serum AMH, granuloza hücrelerinden salgılanmaktadır. Çalışmamızda gruplar arasında folikül sayıları aynı olmasına karşın, serum AMH değerleri farklıdır. Bu sonuç granuloza hücre sayısı ile bağlantılı olabilir. Her bir folikül tipi büyüklüğü farklı aralıkları kapsamakta olup granuloza hücre sayısı ile doğrudan ilişkilidir. Bunun aksine Uchikura vd. (2011), çalışmalarında antral folikülleri gruplandırmış; fakat yetişkin kedilerde bu gruplar arasında da fark elde edememişlerdir. Bu nokta dikkat çekicidir.

Kadınlarda, serum AMH seviyesi ovaryum rezervini yansıtmadır ve rezervin değerlendirilmesinde en güvenilir belirteç kabul edilmektedir (Kostrzewa et al., 2020). Serum AMH'nin, genç kadınlarda ve ergenlerde aynı zamanda fonksiyonel ovaryum rezervini yansıtmakta olduğunu ve her zaman primordiyal folikül havuzu ile korelasyon göstermeyeceğini bildiren görüşler de vardır (Moolhuijsen and Visser, 2020). Buna karşılık ovaryum rezervi ve primordiyal folikül havuzunun azalması paralellik göstermektedir (Kostrzewa et al., 2020).

Kostrzewa vd. (2020), menstrual siklusunun başında, serum AMH seviyesinin antral folikül sayısı (AFS) ile yüksek oranda korelasyon gösterdiğini ve folikül çapı büyüdükçe serum AMH seviyesinin azaldığını ortaya koymuşlardır. Aynı şekilde, Depmann vd. (2016), serum AMH seviyesinin siklus boyunca değişmesinin antral folikül sayısı ile paralellik gösterdiğini, AMH seviyesinin temel olarak 2-8 mm büyüklüğündeki antral foliküller tarafından belirlendiğini ve antral folikül havuzunun AMH'yi yansıttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde Cook vd. (2000) ve Wunder vd. (2008), foliküler fazdaki serum AMH seviyesinin luteal fazdakinden daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bu hipotezleri destekler nitelikte Lee vd. (2010) ve Melado vd. (2017), foliküler evrenin başında, serum AMH'nin ovaryum stimülasyonuna yüksek oranda cevap verdiğini ve mensturasyonun ilk günlerinde serum AMH ve AFS'nin ovaryum stimülasyon tedavisinden önce birlikte değerlendirilmesini önermektedirler. Siklusun 1-3. günlerinde, serum AMH ve AFS'nin birlikte değerlendirilmesinin, hormon stimülasyonunu takiben daha fazla gelişmesi beklenen foliküllerin belirlenmesine ve en uygun tedavi protokolünün belirlenmesini sağlayacağı öngörülmektedir (Melado et al., 2018). Bunun aksine serum AMH'nin kadınlarda siklus boyunca sabit olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (La Marca 2004; La Marca et al 2007; La Marca 2009).

Yukarıdaki anlatılanlara istinaden, çalışmamızda iki evrede de AMH seviyesinde anlamlı bir fark olmakla birlikte sadece östrus evresinde, pre-antral ve primordiyal folikül sayısı ile AMH arasında korelasyon göstermiştir. Bu sonuç doğrultusunda, östrus ve interöstrus evrelerini ovaryum rezervinin değerlendirilmesi amacıyla göz önünde bulundurduğumuzda, östrus evresinin daha uygun olabileceği düşünülebilir.

SONUÇ

Ani-Müllerian hormon insanlarda ovaryum rezervini belirlemede, ovaryum tümörlerinin teşhis edilmesinde ve in-vitro fertilizasyon tedavisinde kullanılan en güvenilir markıdır. Ovaryumda en çok ovaryum pre-antral ve erken antral foliküllerinden salgılandığı için diğer hormon markılarına göre daha güvenilirlerdir. Beşeri hekimlikte olduğu gibi veteriner hekimlik alanında da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Pet hayvanlarında ovaryan remnant sendromu teşhisi ve ovaryum rezervinin belirlenmesine ilişkin birçok literatür bulunsada kedilerle ilgili yapılan çalışmalar oldukça azdır ve bu konudaki çalışmaların genişletilmesi sadece evcil değil nesli tükenmekte olan kedigiller için de önem arz etmektedir.

Bu araştırmanın sonucunda; serum Anti-Müllerian hormonun östrus evresinde primordiyal, sekonder ve pre-antral foliküllerle pozitif korelasyon gösterdiği bulunmuştur ve östrus siklusundaki ortalama serum AMH değerinin interöstrustaki değerine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca iki evrede ortalama folikül sayılarının benzer olmasına karşın, serum AMH miktarlarındaki farklılık dikkat çekici bir unsurdur.

Serum AMH ile gonadotropinlerin ilişkisini tespit etmek adına AMH haricindeki diğer hormonların da seviyelerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. İnsanlarda ortalama 45-50 yaş civarında ovaryum rezervi azalmakta menopoz evresine girmektedir. Kediler insanlardaki gibi menopoz evresine sahip olmamakla birlikte ilerleyen yaşlarda sikluslarda düzensizlik görülmektedir. Şu ana kadar yapılan dişi kedi ovaryum rezervini baz alan çalışmalarda en üst yaş sınırı 3 yaştır. Kedilerde daha ileri yaşları göz önüne alan çalışmalar yapılmalıdır. Bu konuda çalışmaların sürdürülmesi araştırmacılara olumlu yönde yansıyacaktır. Çalışmamızda gruplar arasındaki folikül sayısı aynı olmasına rağmen, AMH düzeylerinin farklı olması ilgi çekicidir; çünkü serum AMH, pre-antral ve antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salgılanmaktadır. Bu nedenle AMH reseptör bazında çalışmaların sürdürülmesi gerekmektedir. Ayrıca serum AMH, pre-antral ve antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salgılanmakta ve granuloza hücre sayısı da folikül büyüklüğü ile ilişkili olduğu için, folikül tiplerinin de kendi içinde gruplandırılması gereklidir.

Serum AMH'nin insanlarda güvenilir markır olmasının nedenlerinden birisi de siklus boyunca antral folikül sayısı ile paralellik göstermesidir. Çalışmamızda kedilerde siklusun iki evresi arasında AMH seviyesinde önemli fark bulunmuş ve

sadece östrus evresinde pre-antral folikül, primordiyal folikül ve AMH arasında korelasyon bulunmuştur. Daha fazla sayıda ve farklı yaşlardaki kedilerin ve siklus evrelerinin tümünü içeren kapsamlı çalışmaların yapılması konunun aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Alward, K. J., and Bohlen, J. F. (2020). Overview of Anti-Müllerian hormone (AMH) and association with fertility in female cattle. *Reproduction In Domestic Animals, Zuchthygiene*, 55(1), 3–10.
- Anadol, E., Gultiken, N., Yarim, G. F., Karaca, E., Kanca, H., Yarim, M. (2020). Investigation of diagnostic use of serum anti-Müllerian hormone concentration in dioestrus and anoestrus bitches before and after ovariohysterectomy and the relationship with ovarian follicle numbers. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 23(3), 391–397.
- Axnér, E., and Ström Holst, B. (2015). Concentrations of anti-Müllerian hormone in the domestic cat. Relation with spay or neuter status and serum estradiol. *Theriogenology*, 83(5), 817–821.
- Aydın, M. ve Taşal, İ. (2013). ‘‘Üreme Fizyolojisi’’. M. Kaymaz, M. Fındık, R. Ali, K. Afşin (eds.). *Köpek ve Kedilerde Doğum ve Jinekoloji.. (s. 283-296)*. Malatya: Medipres.
- Aydos, A. , Öztemur, Y. ve Dedeoğlu, B. G. (2016). Polikistik over sendromu ve moleküler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* , 73 (1) , 81-88 .
- Baba, T., Ting, A. Y., Tkachenko, O., Xu, J., Stouffer, R. L. (2017). Direct actions of androgen, estrogen and anti-Müllerian hormone on primate secondary follicle development in the absence of FSH in vitro. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 32(12), 2456–2464.
- Banks, D. R., and Stabenfeldt, G. H. (1983). Prolactin in the cat: II. Diurnal patterns and photoperiod effects. *Biology of Reproduction*, 28(4), 933–939.
- Batista, E. O., Guerreiro, B. M., Freitas, B. G., Silva, J. C., Vieira, L. M., Ferreira, R. M., Rezende, R. G., Basso, A. C., Lopes, R. N., Rennó, F. P., Souza, A. H., Baruselli, P. S. (2016). Plasma anti-Müllerian hormone as a predictive endocrine marker to select *Bos taurus* (Holstein) and *Bos indicus* (Nelore) calves for in vitro embryo production. *Domestic Animal Endocrinology*, 54, 1–9.
- Binder, C., Aurich, C., Reifinger, M., Aurich, J. (2019). Spontaneous ovulation in cats-Uterine findings and correlations with animal weight and age. *Animal Reproduction Science*, 209, 106167.
- Boerner, B. P., George, N. M., Targy, N. M., Sarvetnick, N. E. (2013). TGF- β superfamily member Nodal stimulates human β -cell proliferation while maintaining cellular viability. *Endocrinology*, 154(11), 4099–4112.
- Bouzoni, E., Perakakis, N., Mantzoros, C. S. (2020). Circulating profile of Activin-Follistatin-Inhibin Axis in women with hypothalamic amenorrhea in response to leptin treatment. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 113, 154392.
- Bristol, S. K., and Woodruff, T. K. (2004). Follicle-restricted compartmentalization of transforming growth factor beta superfamily ligands in the feline ovary. *Biology of Reproduction*, 70(3), 846–859.
- Bristol-Gould, S., and Woodruff, T. K. (2006). Folliculogenesis in the domestic cat (*Felis catus*). *Theriogenology*, 66(1), 5–13.
- Brown, J. L., and Comizzoli, P. (2018). *Female Cat Reproduction*. in. M. K. Skinner (eds.). Encyclopedia of Reproduction (s. 692-701). Academic Press:Elsevier
- Budağ, C. (2016). Evcil Kedilerin Beslenmesi. *Türkiye Klinikleri Dergisi*, 1(1), 90-102.
- Cedars, M. I. (2022). Evaluation of Female Fertility-AMH and Ovarian Reserve Testing. *The Journal Of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 107(6), 1510–1519.

- Chantziantoniou, N., Donnelly, A. D., Mukherjee, M., Boon, M. E., Austin, R. M. (2017). Inception and Development of the Papanicolaou Stain Method. *Acta Cytologica*, 61(4-5), 266–280.
- Cochrane and Area Humane Society. (2020). History of the cats. *Animal Shelter*. Retrieved August 2020, from <http://www.cochranehumane.com/>
- Cook, C. L., Siow, Y., Taylor, S., Fallat, M. E. (2000). Serum müllerian-inhibiting substance levels during normal menstrual cycles. *Fertility and Sterility*, 73(4), 859–861.
- Depmann, M., van Disseldorp, J., Broer, S. L., Eijkemans, M. J., Laven, J. S., Visser, J. A., de Rijke, Y. B., Mol, B. W., Broekmans, F. J. (2016). Fluctuations in anti-Müllerian hormone levels throughout the menstrual cycle parallel fluctuations in the antral follicle count: a cohort study. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 95(7), 820–828.
- di Clemente, N., Racine, C., Pierre, A., Taieb, J. (2021). Anti-Müllerian Hormone in Female Reproduction. *Endocrine Reviews*, 42(6), 753–782.
- di Clemente, N., Wilson, C., Faure, E., Boussin, L., Carmillo, P., Tizard, R., Picard, J. Y., Vigier, B., Josso, N., Cate, R. (1994). Cloning, expression, and alternative splicing of the receptor for anti-Müllerian hormone. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 8(8), 1006–1020.
- Driscoll, C. A., Clutton-Brock, J., Kitchener, A. C., O'Brien, S. J. (2009). The Taming of the cat. Genetic and archaeological findings hint that wildcats became housecats earlier--and in a different place--than previously thought. *Scientific American*, 300(6), 68–75.
- Dubuisson, J. B., Chapron, C. (1994). Classification of endometriosis. The need for modification. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 9(12), 2214–2216.
- El-Sheikh Ali, H., Kitahara, G., Takahashi, T., Mido, S., Sadawy, M., Kobayashi, I., Hemmi, K., Osawa, T. (2017). Plasma anti-Müllerian hormone profile in heifers from birth through puberty and relationship with puberty onset. *Biology of Reproduction*, 97(1), 153–161.
- England, G.W.C., and Lea, R. (2019). “ Puberty and Seasonality”. Noakes, D., Parkinson, T. England, G.W.C (eds.). in: *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (s.54-63). Edinburgh, Scotland: Elsevier.
- Erdost, H. (2011). “Dişi genital sistem” . Özer, A (ed.). *Veteriner Özel Histoloji*. (s 219-251). Ankara: Nobel Kitabevi.
- Flock, U., Reese, S., Otzdorff, C., Klein, R., Walter, B. (2022). Anti-Müllerian hormone concentrations in queens throughout the estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology*, 81, 106749.
- Forcada, F., Abecia, J., and Zarazaga, L. (1991). A note on attainment of puberty of september-born early-maturing ewe lambs in relation to level of nutrition. *Animal Production*, 53(3), 407-409.
- Golestanpour, H., Javadi, G., Sheikhha, M. H. (2020). Association of GRIA1 polymorphisms with ovarian response to human menopausal gonadotropin in Iranian women. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 47(3), 207–212.
- Greger, I.H., Watson, J.F., Cull-Candy, S.G. (2017). Structural and Functional Architecture of AMPA-Type Glutamate Receptors and Their Auxiliary Proteins. *Neuron*, 94, 713-730.
- Griffin, B. Prolific Cats: The Estrous Cycle. *Compendium*. 2001(23),1049–1057.
- Grynberg, M., Pierre, A., Rey, R., Leclerc, A., Arouche, N., Hesters, L., Catteau-Jonard, S., Frydman, R., Picard, J. Y., Fanchin, R., Veitia, R., di Clemente, N., Taieb, J. (2012). Differential regulation of ovarian anti-müllerian hormone (AMH) by estradiol through

- α - and β -estrogen receptors. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(9), 1649–1657.
- Gudermuth, D. F., Newton, L., Daels, P., Concannon, P. (1997). Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. *Journal of reproduction and fertility*, 51, 177–184.
- Gültiken, N., Yarim, M., Aslan, S., Gürler, H., Yarim, G. F., Tuncay, M., İnal, S., Schäfer-Somi, S. (2022). Expression of Anti-Müllerian Hormone and Its Type 2 Receptor in the Ovary of Pregnant and Cyclic Domestic Cats. *Animals : An Open Access Journal From MDPI*, 12(7), 877.
- Han, Y. G., Zeng, Y., Huang, Y. F., Huang, D. L., Peng, P., Na, R. S. (2022). A nonsynonymous SNP within the AMH gene is associated with litter size in Dazu black goats. *Animal Biotechnology*, 33(5), 992–996.
- Hart, K. N., Stocker, W. A., Nagykerly, N. G., Walton, K. L., Harrison, C. A., Donahoe, P. K., Pépin, D., Thompson, T. B. (2021). Structure of AMH bound to AMHR2 provides insight into a unique signaling pair in the TGF- β family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(26), e2104809118.
- Hayes, E., Kushnir, V., Ma, X., Biswas, A., Prizant, H., Gleicher, N., & Sen, A. (2016). Intracellular mechanism of Anti-Müllerian hormone (AMH) in regulation of follicular development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 433, 56–65.
- Hirayama, H., Naito, A., Fujii, T., Sugimoto, M., Takedomi, T., Moriyasu, S., Sakai, H., Kageyama, S. (2019). Effects of genetic background on responses to superovulation in Japanese Black cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 81(3), 373–378.
- Hollinshead, F. K., Walker, C., Hanlon, D. W. (2017). Determination of the normal reference interval for anti-Müllerian hormone (AMH) in bitches and use of AMH as a potential predictor of litter size. *Reproduction in Domestic Animals, Zuchthygiene*, 52 (2), 35–40.
- Howard, J. A., Hart, K. N., Thompson, T. B. (2022). Molecular Mechanisms of AMH Signaling. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 927824.
- Jamil, Z., Fatima, S. S., Ahmed, K., Malik, R. (2016). Anti-Mullerian Hormone: Above and Beyond Conventional Ovarian Reserve Markers. *Disease Markers*, 2016, 5246217.
- Jirge P. R. (2011). Ovarian reserve tests. *Journal Of Human Reproductive Sciences*, 4(3), 108–113.
- Johnson, A. K. (2022). Normal feline reproduction: The queen. *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, 24(3), 204–211.
- Johnston, S.D., Root-Kustriz M.V., Olson, P.N.S. (2001). The Feline Estrous Cycle. Johnston SD (ed). in: *Canine and Feline Theriogenology. (s.396-402)*. Philadelphia: 1st Ed, W.B. Saunders Company.
- Josso, N., and Picard, J. Y. (2022). Genetics of anti-Müllerian hormone and its signaling pathway. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 36(1), 101634.
- Josso, N., Lamarre, I., Picard, J. Y., Berta, P., Davies, N., Morichon, N., Peschanski, M., Jeny, R. (1993). Anti-müllerian hormone in early human development. *Early Human Development*, 33(2), 91–99.
- Karki, R., Pandya, D., Elston, R. C., Ferlini, C. (2015). Defining "mutation" and "polymorphism" in the era of personal genomics. *BMC Medical Genomics*, 8, 37.

- Kereilwe, O., Pandey, K., Borromeo, V., Kadokawa, H. (2018). Anti-Müllerian hormone receptor type 2 is expressed in gonadotrophs of postpubertal heifers to control gonadotrophin secretion. *Reproduction, Fertility, and Development*, 30(9), 1192–1203.
- Kostrzewa, M., Głowacka, E., Stetkiewicz, T., Grzesiak, M., Szyłło, K., Stachowiak, G., Wilczyński, J. R. (2020). Is serum anti-Müllerian hormone (AMH) assay a satisfactory measure for ovarian reserve estimation? A comparison of serum and peritoneal fluid AMH levels. *Advances In Clinical and Experimental Medicine : Official Organ Wroclaw Medical University*, 29(7), 853–856.
- Köninger, A., Koch, L., Enekwe, A., Birdir, C., Kasimir-Bauer, S., Kimmig, R., Strowitzki, T., Schmidt, B. (2015). Change of anti-Mullerian-hormone levels during follicular phase in PCOS patients. *Gynecological endocrinology : The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 31(1), 26–30.
- Krajcarz, M., Krajcarz, M., Baca, M., Golubiński, M., Bielichová, Z., Bulatović, J., Popović, D. (2022). The history of the domestic cat in Central Europe. *Antiquity*, 96(390), 1628–1633.
- La Marca, A., Malmusi, S., Giulini, S., Tamaro, L. F., Orvieto, R., Levratti, P., Volpe, A. (2004). Anti-Müllerian hormone plasma levels in spontaneous menstrual cycle and during treatment with FSH to induce ovulation. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 19(12), 2738–2741.
- La Marca, A., Giulini, S., Tirelli, A., Bertucci, E., Marsella, T., Xella, S., Volpe, A. (2007). Anti-Müllerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 22(3), 766–771.
- La Marca, A., Broekmans, F. J., Volpe, A., Fauser, B. C., Macklon, N. S., ESHRE Special Interest Group for Reproductive Endocrinology--AMH Round Table (2009). Anti-Mullerian hormone (AMH): what do we still need to know ?. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 24(9), 2264–2275.
- Lai, L. Y. S., Gracie, N. P., Gowripalan, A., Howell, L. M., Newsome, T. P. (2022). SMAD proteins: Mediators of diverse outcomes during infection. *European Journal of Cell Biology*, 101(2), 151204.
- Lapiente, C., Faya, M., Blanco, P. G., Grisolia-Romero, M., Marchetti, C., Gobello, C. (2023). Anti-Müllerian hormone in queens: Serum concentrations and total ovarian follicle population. *Theriogenology*, 197, 111–115.
- Lee, J. R., Kim, S. H., Kim, S. M., Jee, B. C., Ku, S. Y., Suh, C. S., Choi, Y. M., Kim, J. G., Moon, S. Y. (2010). Anti-Mullerian hormone dynamics during controlled ovarian hyperstimulation and optimal timing of measurement for outcome prediction. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 25(10), 2597–2604.
- Little, S. (2011). Feline reproduction: problems and clinical challenges. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(7), 508–515.
- Little, S. E. (2012) Female reproduction. Little, S. E. (ed.). in: *The Cat* . (s.1195–1227). St. Louis, Missouri: W.B. Saunders.
- Lord, N. D., Carte, A. N., Abitua, P. B., Schier, A. F. (2021). The pattern of nodal morphogen signaling is shaped by co-receptor expression. *ELife*, 10, e54894.
- Maione, L., Fèvre, A., Nettore, I. C., Manilall, A., Francou, B., Trabado, S., Bouligand, J., Guiochon-Mantel, A., Delemer, B., Flanagan, C. A., Macchia, P. E., Millar, R. P., Young, J. (2019). Similarities and differences in the reproductive phenotypes of women with congenital hypogonadotrophic hypogonadism caused by GNRHR mutations and

- women with polycystic ovary syndrome. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 34(1), 137–147.
- McCredie, S., Ledger, W., Venetis, C. A. (2017). Anti-Müllerian hormone kinetics in pregnancy and post-partum: a systematic review. *Reproductive Biomedicine Online*, 34(5), 522–533.
- Melado Vidales, L., Fernández-Nistal, A., Martínez Fernández, V., Verdú Merino, V., Bruna Catalán, I., Bajo Arenas, J. M. (2017). Anti-Müllerian hormone dynamics during GnRH-antagonist short protocol for IVF/ICSI in women with varying ovarian reserve levels. *Minerva Ginecologica*, 69(2), 128–134.
- Melado, L., Lawrenz, B., Sibal, J., Abu, E., Coughlan, C., Navarro, A. T., Fatemi, H. M. (2018). Anti-müllerian Hormone During Natural Cycle Presents Significant Intra and Intercycle Variations When Measured With Fully Automated Assay. *Frontiers in Endocrinology*, 9, 686.
- Meslin, C., Mugnier, S., Callebaut, I., Laurin, M., Pascal, G., Poupon, A., Goudet, G., Monget, P. (2012). Evolution of genes involved in gamete interaction: evidence for positive selection, duplications and losses in vertebrates. *PloS one*, 7(9), e44548.
- Mills, J. N., Valli, V. E., and Lumsden, J. H. (1979). Cyclical changes of vaginal cytology in the cat. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 20(4), 95–101.
- Monniaux, D., Drouilhet, L., Rico, C., Estienne, A., Jarrier, P., Touzé, J. L., Sapa, J., Phocas, F., Dupont, J., Dalbiès-Tran, R., Fabre, S. (2012). Regulation of anti-Müllerian hormone production in domestic animals. *Reproduction, Fertility, and Development*, 25(1), 1–16.
- Moolhuijsen, L. M. E., and Visser, J. A. (2020). Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Reserve: Update on Assessing Ovarian Function. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 105(11), 3361–3373.
- Moreno-Sepulveda, J., Romeral, C., Niño, G., Pérez-Benavente, A. (2022). The Effect of Laparoscopic Endometrioma Surgery on Anti-Müllerian Hormone: A Systematic Review of the Literature and Meta-Analysis. *JBRA assisted reproduction*, 26(1), 88–104.
- Mossa, F., Jimenez-Krassel, F., Scheetz, D., Weber-Nielsen, M., Evans, A. C. O., Ireland, J. J. (2017). Anti-Müllerian Hormone (AMH) and fertility management in agricultural species. *Reproduction (Cambridge, England)*, 154(1), R1–R11.
- Muhas C., Nishad K. M., Ummunnoora K. P., Jushna K., Saheera K. V., Dilsha K. P. (2018). Polycystic Ovary Syndrome (Pcos)-An Overview. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 10(6), 5–9.
- Nagashima, J. B., Hansen, B. S., Songsasen, N., Travis, A. J., Place, N. J. (2016). Anti-Müllerian Hormone in the Domestic Dog during the Anestrus to Oestrous Transition. *Reproduction in Domestic Animals, Zuchthygiene*, 51(1), 158–164.
- Nilsson, E. E., Detzel, C., Skinner, M. K. (2006). Platelet-derived growth factor modulates the primordial to primary follicle transition. *Reproduction (Cambridge, England)*, 131(6), 1007–1015.
- Noakes, D., Parkinson, T., and England, G. (2001). ‘‘Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity’’. D. Noakes, T. Parkinson, G. England (eds.). in: *Arthur’s Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (s. 37-39). England: Saunders.
- Otsuka, F. (2010). Multiple endocrine regulation by bone morphogenetic protein system. *Endocrine Journal*, 57(1), 3–14.

- Otsuka F. (2013). Multifunctional bone morphogenetic protein system in endocrinology. *Acta medica Okayama*, 67(2), 75–86.
- Pangas S. A. (2012). Regulation of the ovarian reserve by members of the transforming growth factor beta family. *Molecular Reproduction and Development*, 79(10), 666–679.
- Pankhurst M. W. (2017). A putative role for anti-Müllerian hormone (AMH) in optimising ovarian reserve expenditure. *The Journal of Endocrinology*, 233(1), R1–R13.
- Patel, U. R., Gautam, S., Chatterji, D. (2019). Unraveling the Role of Silent Mutation in the ω -Subunit of Escherichia coli RNA Polymerase: Structure Transition Inhibits Transcription. *ACS Omega*, 4(18), 17714–17725.
- Petersen, A.L. (2015). Literature review. *Reproductive physiology of the female cat* (p.4-6). Retrieved May 13, 2015, from <http://stud.epsilon.slu.se/>
- Pfeiffer, K. E., Jury, L. J., Larson, J. E. (2014). Determination of anti-Müllerian hormone at estrus during a synchronized and a natural bovine estrous cycle. *Domestic Animal Endocrinology*, 46, 58–64.
- Pir Yağcı, İ., Polat, İ. M., Pekcan, M., (2016). Evaluation of Age Related Anti-Mullerian Hormone Variations in Domestic Cat. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(5), 729-732.
- Place, N. J., Hansen, B. S., Cheraskin, J. L., Cudney, S. E., Flanders, J. A., Newmark, A. D., Barry, B., Scarlett, J. M. (2011). Measurement of serum anti-Müllerian hormone concentration in female dogs and cats before and after ovariohysterectomy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 23(3), 524–527.
- Poole, D. H., Ocón-Grove, O. M., Johnson, A. L. (2016). Anti-Müllerian hormone (AMH) receptor type II expression and AMH activity in bovine granulosa cells. *Theriogenology*, 86(5), 1353–1360.
- Prapa, E., Vasilaki, A., Dafopoulos, K., Katsiani, E., Georgoulas, P., Messini, C. I., Anifandis, G., Messinis, I. E. (2015). Effect of Anti-Müllerian hormone (AMH) and bone morphogenetic protein 15 (BMP-15) on steroidogenesis in primary-cultured human luteinizing granulosa cells through Smad5 signalling. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(7), 1079–1088.
- Reynaud, K., Gicquel, C., Thoumire, S., Chebrout, M., Ficheux, C., Bestandji, M., Chastant-Maillard, S. (2009). Folliculogenesis and morphometry of oocyte and follicle growth in the feline ovary. *Reproduction in Domestic Animals, Zuchthygiene*, 44(2), 174–179.
- Ribeiro, E. S., Bisinotto, R. S., Lima, F. S., Greco, L. F., Morrison, A., Kumar, A., Thatcher, W. W., Santos, J. E. (2014). Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6888–6900.
- Rico, C., Médigue, C., Fabre, S., Jarrier, P., Bontoux, M., Clément, F., Monniaux, D. (2011). Regulation of anti-Müllerian hormone production in the cow: a multiscale study at endocrine, ovarian, follicular, and granulosa cell levels. *Biology of reproduction*, 84(3), 560–571.
- Rzeszowska, M., Leszcz, A., Putowski, L., Hałabiś, M., Tkaczuk-Włach, J., Kotarski, J., Polak, G. (2016). Anti-Müllerian hormone: structure, properties and appliance. *Ginekologia Polska*, 87(9), 669–674.
- Seachrist, D. D., and Keri, R. A. (2019). The Activin Social Network: Activin, Inhibin, and Follistatin in Breast Development and Cancer. *Endocrinology*, 160(5), 1097–1110.
- Sharma, N., and Chakrabarti, S. (2019). “Ovarian Reserve”. Sharma N (ed.). in: *Innovations In Assisted Reproduction Technology*. (s. 735-886) . England.

- Shastri, B. S. (2009). SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 578, 3–22.
- Shrikhande, L., Shrikhande, B., Shrikhande, A. (2020). AMH and Its Clinical Implications. *Journal of Obstetrics and Gynaecology of India*, 70(5), 337–341.
- Snoeck, F., Sarrazin, S., Wydooghe, E., Van Soom, A. (2017). Age and anti-Müllerian hormone levels predict the success of in vitro maturation of cat oocytes. *Reproduction in Domestic Animals, Zuchthygiene*, 52(2), 98–102.
- Songsasen, N., and Wildt, D. E. (2007). Oocyte biology and challenges in developing in vitro maturation systems in the domestic dog. *Animal Reproduction Science*, 98(1-2), 2–22.
- Souza, A. H., Carvalho, P. D., Rozner, A. E., Vieira, L. M., Hackbart, K. S., Bender, R. W., Dresch, A. R., Verstegen, J. P., Shaver, R. D., Wiltbank, M. C. (2015). Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98(1), 169–178.
- Sreenivasan, R., Shkel, I. A., Chhabra, M., Drennan, A., Heitkamp, S., Wang, H. C., Sridevi, M. A., Plaskon, D., McNerney, C., Callies, K., Cimperman, C. K., Record, M. T., Jr (2020). Fluorescence-Detected Conformational Changes in Duplex DNA in Open Complex Formation by Escherichia coli RNA Polymerase: Upstream Wrapping and Downstream Bending Precede Clamp Opening and Insertion of the Downstream Duplex. *Biochemistry*, 59(16), 1565–1581.
- Stangaferro, M. L., Matiller, V., Díaz, P. U., Ortega, H. H., Rey, F., Rodríguez, F. M., Silva, M. A., Salvetti, N. R. (2014). Role of activin, inhibin, and follistatin in the pathogenesis of bovine cystic ovarian disease. *Animal Reproduction Science*, 148(3-4), 97–108.
- Stolbova, O., Skosyrskikh, L., Kruglov, A. (2018). “Analysis of Reproductive Disorders of Cats and Means Used to Correct Them”. N. V. Martyushev (ed.). in: *Advances in Engineering Research*. (s.669-673). Published by Atlantis Press.
- Sugimoto, M., Sasaki, S., Watanabe, T., Nishimura, S., Ideta, A., Yamazaki, M., Matsuda, K., Yuzaki, M., Sakimura, K., Aoyagi, Y., Sugimoto, Y. (2010). Ionotropic glutamate receptor AMPA 1 is associated with ovulation rate. *PloS One*, 5(11), e13817.
- Şimşek, N., Bayraktaroğlu, A.G., Ergün, E. (2012). “Dişi Genital Sistem”. *Ergün E (ed.). Histoloji Atlası Uygulama Kılavuzu*. (s. 99-105). Ankara: Fenomen Yayıncılık.
- Şimşek, Ö. (2012). Kedilerde Ovaryum Fizyolojisi . Kocatepe. *Veterinary Journal* , 5 (2) , 43-47 .
- Uchikura, K., Nagano, M., Hishinuma, M. (2011). The effect of ovarian status and follicular diameter on maturational ability of domestic cat oocytes. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 73(5), 561–566.
- Ueno, S., Kuroda, T., Maclaughlin, D. T., Ragin, R. C., Manganaro, T. F. Donahoe, P. K. (1989). Mullerian inhibiting substance in the adult rat ovary during various stages of the estrous cycle. *Endocrinology*, 125(2), 1060–1066.
- Veiga-Lopez, A., Ye, W., Padmanabhan, V. (2012). Developmental programming: prenatal testosterone excess disrupts anti-Müllerian hormone expression in preantral and antral follicles. *Fertility and Sterility*, 97(3), 748–756.
- Verhage, H. G., Beamer, N.B., Brenner, R.M. (1976). Plasma Levels of Estradiol and Progesterone in the Cat During Polyestrus, Pregnancy and Pseudopregnancy, *Biology of Reproduction*, 14 (5), 579–585.
- Verstegen, J. (1998). “Physiology and Endocrinology of Reproduction in Female Cats”. Gillian M. Simpson, Gary C. W. England, Mike J. Harvey (ed.). in: *Manual of small animal reproduction*. (s.11-16). England Gloucester.

- Walter, B. (2020). Anti-Müllerian hormone in dogs and cats reproduction. *Reproduction in Domestic Animals, Zuchtthygiene*, 55 (2), 26–31.
- Walter, B., Feulner, H., Otzdorff, C., Klein, R., Reese, S., Meyer-Lindenberg, A. (2019a). Changes in anti-Müllerian hormone concentrations in bitches throughout the oestrous cycle. *Theriogenology*, 127, 114–119.
- Walter, B., Flock, U., Aupperle-Lellbach, H., Kempker, L., Törner, K., Leykam, C., Meyer-Lindenberg, A. (2019b). Elevated anti-Müllerian hormone in 4 dogs with disorders of sex development. *First Symposium of the European College of Animal Reproduction*. Vienna, s. 57.
- Weenen, C., Laven, J. S., Von Bergh, A. R., Cranfield, M., Groome, N. P., Visser, J. A., Kramer, P., Fauser, B. C., Themmen, A. P. (2004). Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Molecular Human Reproduction*, 10(2), 77–83.
- Wildt, D. E., Seager, S. W., Chakraborty, P. K. (1980). Effect of copulatory stimuli on incidence of ovulation and on serum luteinizing hormone in the cat. *Endocrinology*, 107(4), 1212–1217.
- Wildt, D. E., Seager, S. W., & Chakraborty, P. K. (1981). Behavioral, ovarian and endocrine relationships in the pubertal bitch. *Journal of Animal Science*, 53(1), 182–191.
- Wunder, D. M., Bersinger, N. A., Yared, M., Kretschmer, R., Birkhäuser, M. H. (2008). Statistically significant changes of antimüllerian hormone and inhibin levels during the physiologic menstrual cycle in reproductive age women. *Fertility and Sterility*, 89(4), 927–933.
- Xu, J, Zelinski, MB, Stouffer, RL. (2016). “Studies on anti-Müllerian hormone production, action, and regulation in the primate ovary: insight into human folliculogenesis”. Tal R, Seifer DB (eds). in: *Anti-Mullerian Hormone: Biology, Role in Ovarian Function, and Clinical Significance*. (s. 33-46). New York: Nova Science.
- Yilmaz T., Toydemir Ö., Kırşan T. S., Gunay, Ucmak, I., Caliskan Karacam, E. (2015). Anti-Müllerian hormone as a diagnostic tool for ovarian remnant syndrome in bitches. *Veterinary Research Communications*, 39(3), 159–162.
- Yin, W. W., Huang, C. C., Chen, Y. R., Yu, D. Q., Jin, M., Feng, C. (2022). The effect of medication on serum anti-müllerian hormone (AMH) levels in women of reproductive age: a meta-analysis. *BMC Endocrine Disorders*, 22(1), 158.
- Yurci, A., and Gungor, N.D. Low antimüllerian hormone levels improve fertility outcome in patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Reprod Health* 2021; 5: 1-5.
- Zavvari, F., Modarres Mousavi, S. M., Ejlali, M., Barfi, S., Karimzadeh, F. (2020). Glutamate Signaling Pathway in Absence Epilepsy: Possible Role of Ionotropic AMPA Glutamate Receptor Type 1 Subunit. *Iranian journal of Pharmaceutical Research : IJPR*, 19(4), 410–418.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604.01.03-E.18526
Konu : Hadyek izni hk.

23/10/2020

DOÇ.DR.NİLGÜN GÜLTİKEN
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

Sahipli Hayvanlar üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere başvuran Doç. Dr. Nilgün GÜLTİKEN'in 2020/56 Kabul nolu **"Evcil kedilerde ovaryum rezervinin belirlenmesi amacıyla serum anti – Müllerian hormon konsantrasyonunun değerlendirilmesi"** başlıklı projesi 22.10.2020 tarihli Kurul toplantısında OMU- HADYEK'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deney Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Mustafa AYYILDIZ
HADYEK Başkanı

Ek: ETİK KURUL KARARI 2020 – 56 N. GÜLTİKEN

ÖZ GEÇMİŞ

Müge Tuncay, liseyi Samsun Ondokuz Mayıs Lisesi'nde bitirdi. 2011 yılında Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde lisans eğitimine başladı ve 2016 tarihinde mezun oldu. 2017 yılında OMÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı doktora programına girdi. İyi derecede ingilizce bilmektedir. Temel ilgi alanları; Veteriner Doğum ve Jinekoloji, tenis, yelkenli kullanımı, modern dans eğitmenliğidir.

Yayınlar:

- Gültiken, N., Gürler, H., Yarım, G. F., Binli, F., Tuncay, M., Büyükbudak, F., Gökçeoğlu, A., Anadol, E. (2022). Antioxidant and analgesic potential of butorphanol in dogs undergoing ovariohysterectomy. *Theriogenology*, 190, 1–7.
- Gültiken, N., Yarım, M., Aslan, S., Gürler, H., Yarım, G. F., Tuncay, M., İnal, S., Schäfer-Somi, S. (2022). Expression of Anti-Müllerian Hormone and Its Type 2 Receptor in the Ovary of Pregnant and Cyclic Domestic Cats. *Animals: an open access journal from MDPI*, 12(7), 877.

Kongre Bildirileri:

- Gultiken N, Yarım M, Schafer-Somi S, Gürler H, Yarım GF, Aslan, S. (2019, June). Anti-Müllerian hormone concentration and its correlation with ovarian follicle numbers during cat pregnancy. *Proceedings of the 22nd EVSSAR Congress*, Berlin, Germany.
- Gültiken N, Gürler H, Yarım GF, Binli F, Tuncay M, Büyükbudak F, Gökçeoğlu A, Anadol E. (2022, Mart) Ovaryohisterektomi yapılan köpeklerde butorfanolün antioksidan ve analjezik etkileri. *Türk Veteriner Jinekoloji Derneği IX. Ulusal ve III. Uluslararası Kongresi*, Antalya.
- Tuncay M. (2022, Aralık). “Cystic Endometrial Hyperplasia and Pyometra in Dogs”. *Uluslararası Tıp ve Tıp Kongresi Sağlık Bilimleri Çalışmaları*, ICOMESS, Ankara.
- Tuncay M. (2023, Mayıs). “Transmissible Canine Venereal Tumor”. *Uluslararası Tıp ve Tıp Kongresi Sağlık Bilimleri Çalışmaları*, ICOMESS, Ankara.