

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNER DOĞUM VE JİNEKOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**RATLARDA ANTI-MÜLLERİAN HORMON,
KİSSPEPTİN 1 VE KİSSPEPTİN 1 RESEPTÖR
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Pınar İPEK

2018

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali RIŞVANLI

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Cahit KALKAN

Prof. Dr. Halis ÖCAL

Doç. Dr. Erdal KAYGUSUZOĞLU

Prof. Dr. Muhterem AYDIN

Prof. Dr. Ali RIŞVANLI



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Pınar İPEK

Tarih 02.02.2018

İmza

Prof. Dr. Ali RİŞVANLI

Fırat Üniversitesi Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐmesinde büyük katkısı olan danışman hocam, Sayın Prof. Dr. Ali RİŞVANLI'ya teŐekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca mesleki anlamda beni yetiŐtiren, her konuda olduğu gibi tez kapsamında da yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji ABD Öğretim yelerine ve Araştırma Görevlilerine katkılarından dolayı, Yüksek Lisans programımın her aŐamasında, desteklerini esirgemedен hep yanımda olan aileme, sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

<u>ONAY SAYFASI</u>	II
<u>ETİK BEYAN</u>	III
<u>TEŞEKKÜR</u>	IV
<u>İÇİNDEKİLER</u>	V
<u>TABLolar LİSTESİ</u>	VII
<u>KISALTMALAR LİSTESİ</u>	VIII
<u>ÖZET</u>	X
<u>ABSTRACT</u>	XII
<u>1. GİRİŞ</u>	1
<u>1.1. Ratlarda Genel Reprodüktif Parametreler ve Üreme Özellikleri</u>	1
<u>1.2. Antimüllerian Hormon</u>	2
<u>1.2.1. Antimüllerian hormonun genetiği ve yapısı</u>	3
<u>1.2.2. Antimüllerian hormonun salınımı ve fonksiyonları</u>	4
<u>1.2.3. Antimüllerian hormonun folikül gelişimi üzerine etkisi</u>	5
<u>1.2.4. Fertilite göstergesi olarak antimüllerian hormon</u>	6
<u>1.3. Kisspeptin</u>	7
<u>1.3.1. Kisspeptinlerin etki mekanizması</u>	7
<u>1.3.2. Kisspeptinin doku dağılımı</u>	9
<u>1.4. Ovaryum Hiperstimülasyonu</u>	10
<u>1.5. Kistik Ovaryum Dejenerasyonu</u>	12
<u>2. GEREÇ VE YÖNTEM</u>	15
<u>2.1. Hayvanlar</u>	15

<u>2.2. Uygulama Grupları</u>	15
<u>2.3. Ovaryum Hiperstimülasyonunun Oluşturulması</u>	16
<u>2.4. Kistik Ovaryum Dejenerasyonunun Oluşturulması</u>	16
<u>2.5. Vajinal İrrigasyonlar</u>	16
<u>2.6. Laboratuvar Analizleri</u>	17
<u>2.6.1. Antimüllerian hormon düzeyinin tespiti</u>	17
<u>2.6.2. Kisspeptin 1 düzeyinin tespiti</u>	17
<u>2.6.3. Kisspeptin 1 reseptör düzeyinin tespiti</u>	17
<u>2.6.3.1. Homojenizasyon</u>	18
<u>2.7. İstatistik Analizler</u>	18
<u>3. BULGULAR</u>	19
<u>4. TARTIŞMA</u>	20
<u>5. KAYNAKLAR</u>	24
<u>6. ÖZGEÇMİŞ</u>	28

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1: Ratlarda üremeye ilgili bazı parametreler 2

Tablo 2: Kisspeptin 1 reseptör, AMH ve Kiss1 konsantrasyonlarının gruplara göre dağılımı.....19



KISALTMALAR LİSTESİ

AMH : Antimüllerian hormon

AMH RI : Antimüllerian hormon tip 1 reseptörü

AMH RII : Antimüllerian hormon tip 2 reseptörü

AMHC : Antimüllerian hormon COOH-terminal dimeri

AMHN : Antimüllerian hormon NH₂ –terminal dimer

AMHNC : Antimüllerian hormon non-kovalent kompleksi (Aktif form)

AVPV : Anteroventralperiventriküler

E₂ : Östradiol

FSH : Folikül uyarıcı hormon

GnRH : Gonadotropin salgılatıcı hormon

GPR54 : G protein-coupled receptor 54

hCG : İnsan koryonik gonadotropin

HHG : Hipotalamus-Hipofiz-Gonad

HS : Ovaryum hiperstimülasyon

IVF : İn vitro fertilizasyon

KiSS-1: Kisspeptin 1

KOD : Kistik ovaryum dejenerasyonu

KR : KiSS 1 reseptör

LH : Lüteinize edici hormon

OHSS: Ovaryan hiperstimülasyon sendromu

PMSG : Gebe kısrak serum gonadotropini

SMAD : Sma and mad related family



ÖZET

Bu tez çalışmasında, seksüel siklusun östrüs ve diöstrüs evrelerinde bulunan, deneysel olarak kistik ovaryum dejenerasyonu (KOD) ve ovaryum hiperstimülasyonu (HS) oluşturulan ratların ovaryumlarındaki kisspeptin 1 reseptör düzeyleri ile kan serumlarındaki Antimüllerian Hormon (AMH) ve Kisspeptin 1 (KiSS-1) düzeylerini araştırmak amaçlandı. Bu amaçla 28 adet 3-4 aylık *Sprague Dawley* ırkı dişi rat materyal olarak kullanıldı. Hayvanlar 4 gruba ayrılarak 1. grup: Siklusun östrüs evresindeki hayvanlardan (n=7), 2. grup: Siklusun diöstrüs evresindeki hayvanlardan (n=7), 3. grup: Ovaryum hiperstimülasyonu (HS) oluşturulan hayvanlardan (n=7) ve 4. grup: Kistik ovaryum dejenerasyonu (KOD) oluşturulan hayvanlardan (n=7) oluşturuldu. Bir ve 2. gruptaki ratların kanları östrüs ve diöstrüste oldukları tespit edildiklerinde, 3 ve 4. gruptaki ratların kanları ise HS ve KOD oluşturulduktan hemen sonra dekapite edilerek alındı. Tüm gruptaki hayvanların ovaryumları toplandı. Elde edilen kan serumlarındaki AMH ve KiSS-1 konsantrasyonları ayrıca ovaryumlardaki kisspeptin 1 reseptör düzeyleri ticari ELISA kitleri kullanılarak tespit edildi. Ölçümler sonucu elde edilen verilerin istatistiki analizleri sonunda, ovaryum dokusu üzerindeki kisspeptin 1 reseptör düzeylerinin östrüs (1.271,43±51,98 pg/ml) ve HS (1.191,43±85,67 pg/ml) grubunda daha fazla olduğu tespit edildi (p<0,05). Yine kan serumundaki en yüksek AMH düzeylerinin ise östrüs (16,91±2,12 ng/ml) grubunda olduğu belirlendi (p<0,05). Kan serumundaki KiSS-1 konsantrasyonları açısından ise gruplar arasında herhangi bir fark olmadığı tespit edildi.

Sonuç olarak, ratlarda deneysel olarak oluşturulan HS ve KOD durumlarında, AMH düzeylerinin siklusun str evresine göre daha düşük olduğu, kisspeptin 1 reseptör düzeylerinin ise HS'li ratlarda str dönemine benzer olduğu gözlendi.

Anahtar Kelimeler: Antimüllerian Hormon, Kisspeptin, Ovaryum Hiperstimülasyonu, Kistik Ovaryum Dejenerasyonu, Rat



The Investigation of Levels of Anti-Mullerian Hormone, Kisspeptin 1 and Kisspeptin 1 Receptor in Rats

ABSTRACT

In this thesis study, it was aimed to investigate the levels of kisspeptin 1 receptor in ovaries, Anti-mullerian hormone (AMH) and kisspeptin 1 (KiSS-1) in blood sera with cystic ovarian degeneration (COD), ovarian hyperstimulation (HS) experimentally, estrus and diestrus stages of sexual cycle in rats. For this purpose, 28 Sprague Dawley female rats aged 3-4 months were used. Rats divided into 4 groups; group 1 consisted animals in the cycle of estrus (n=7); group 2 from animals in the cycle of diestrus (n=7); group 3, animals with HS (n=7); group 4 consisted animals with COD (n=7). Animals in group 1 and 2 were decapitated when they were in estrus and diestrus cycles, group 3 and 4 were decapitated after HS and COD were created. Ovaries of animals from all groups were collected. AMH and KiSS-1 concentrations in blood sera obtained and kisspeptin 1 receptor levels in ovaries were determined using commercial ELISA kits. At the end of statistical analysis of the data obtained after the measurements revealed that the levels of kisspeptin 1 receptors on the ovary tissue were higher in estrus ($1,271.43 \pm 51.98$ pg/ml) and HS ($1,191.43 \pm 85.67$ pg/ml) group ($p < 0.05$). AMH levels in blood sera were found to be higher in the group of estrus (16.91 ± 2.12 ng/ml) ($p < 0.05$). There was no difference between the groups in terms of KiSS-1 concentrations in the blood serum.

As a result, it was observed that AMH levels were lower in the experimental HS and COD cases than in the estrus phase and that the kisspeptin 1 receptor levels were similar to the estrus period in the HS rats.

Key words: Antimullerian Hormone, Kisspeptin, Ovarian Hyperstimulation, Cystic Ovary Degeneration, Rat



1. GİRİŞ

1.1. Ratlarda Genel Reprodüktif Parametreler ve Üreme Özellikleri

Ratlar mevsime bağılı olmayan poliöstrik hayvanlardır ve yıl boyu östrüs gösterirler. Seksüel siklusları yaklaşık 4-5 gün sürer (1). Siklus 4 dönemden meydana gelir. Bu dönemler proöstrüs, östrüs, metöstrüs ve diöstrüs olarak adlandırılır (2). Proöstrüs yaklaşık 12 saat sürer ve bu evrenin sonunda dişi erkeği kabul etmeye başlar. Proöstrüste, dönemin başında vajinal sitolojide çekirdekli epitel hücreler görülür. Dönemin ortasında çekirdekli hücre sayısı %60 oranında azalır. Östrüs evresi 9-15 saat sürer ve dişi erkeği kabul eder, lordosis hareketi gözlenir. Vajinal sitolojide kornifiye hücreler (%75) hakimdir ve geri kalanını çekirdekli hücreler (%25) oluşturur. Metöstrüs ortalama 20-24 saat sürer ve bu dönemde dişi erkeği kabul etmez. Vajinal sitolojide çekirdekli ve kornifiye hücrelerle beraber çok sayıda akyuvar da görülür. Diöstrüs 57 saat sürer ve vajinal sitolojide çekirdekli hücrelere bol miktarda akyuvarların eşlik ettiği görülür (1).

Ratların pubertas yaşı, soy ve çevre koşullarına göre farklılık gösterebilir (1). Örneğin iyi beslenen ratlar ve aynı batında az kardeşe sahip olan ratlar daha erken pubertasa erişirler (2). Dişilerde pubertasa beraber vajina açılır ve proöstrüs gözlenir. Östrüs siklusu vajinanın açılmasından bir hafta sonra başlar (1) (Tablo 1).

Tablo 1: Ratlarda üremeye ilgili bazı parametreler (3).

Pubertas : 2-4 ay

Seksüel siklus : 4-5 gün

Proöstrüs : 12 saat

Östrüs : 12 saat

Metöstrüs : 20 saat

Diöstrüs : 57 saat

Ovulasyon : Spontan

Gebelik süresi : 21 gün

Batındaki yavru sayısı (ortalama) : 10 adet

Laktasyon süresi : 20-22 gün

1.2. Antimüllerian Hormon

Antimüllerian hormon (AMH); *Müllerian Inhibiting Factor* ve *Müllerian Inhibiting Substance* olarak da isimlendirilmektedir. Johannes Peter Müller'den sonra hormona bu isim verilmiştir (4). Josh tarafından 1947'de testisten eksprese edildiği ve erkek fetüste fetal cinsiyet farklılaşmasında müller kanalının regresyonundan sorumlu olduğu gösterilmiştir (5).

Serum AMH seviyelerinin ölçümü 1990'lı yıllarda *Enzyme-Linked Immunosorbent Assays* (ELISA) ile mümkün olmuştur (6). Antimüllerian hormon serumda ng/ml veya pmol/lt olarak ölçülmektedir (7).

1.2.1. Antimüllerian hormonun genetiği ve yapısı

Antimüllerian hormon; aktivinler ve inhibitörler gibi *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF β) ailesinden 140 kilodalton (kDA) ağırlığında homodimerik glikoprotein yapıda bir hormon olup doku büyüme ve farklılaşmasında etkilidir (7). Antimüllerian hormon molekülü, 70 kDA ağırlığında, her birinde C- terminal ve N- terminal ucu bulunan 2 monomerden oluşur (8).

Antimüllerian hormon geni, 2750 bp uzunluğunda, 5 ekzonlu yapıdadır ve molekülün biyoaktif bölümünün kodlandığı kısım guanin ve sitozinden oldukça zengindir. Bu hormon, biyolojik etkilerini gonadal ve mezenşimal hücrelerde transmembral serin/treonin kinaz tip-2 reseptör (AMH RI ve AMH RII) aracılığı ile gösterir (9). Antimüllerian hormonun reseptöre bağlanmasıyla aktive olan AMH RII sitoplazma içinde SMAD (*Sma and Mad Related Family*) proteinlerini fosforile eder ve gen ekspresyonunu başlatır (8).

Antimüllerian hormon RII, müllerian kanal mezenşiminde bulunmaktadır. Bu reseptörün fonksiyon bozukluğu tıpkı AMH yokluğu gibi, kalıcı müllerian kanal sendromuna yol açabilmektedir. Antimüllerian hormon RII ratlarda granüloza ve teka hücrelerinde de izlenmektedir. Antimüllerian hormon RI özellikleri ve işlevi günümüze kadar tam olarak açıklanamamıştır (10). AMH RII, Antimüllerian hormon sinyalizasyonunda esas olarak etkili olan kısımdır (11).

Antimüllerian hormon glikolize sistin bağlantılı bir homodimerdir ve 560 aminoasitten oluşan preprohormon olarak sentezlenir. Sentezi sırasında ilk 24 aminoasit çıkarılarak AMH reseptörünü aktive etmeyen prohormona dönüşür. Daha sonra 451 ile 452. aminoasitler arasından bölünmeye / parçalanmaya

uğrayarak 25-kDA COOH- terminal dimer (AMHc) ve 120 kDA NH₂-terminal dimerden (AMHN) oluşan ve reseptörü aktive eden nonkovalent kompleksi (AMHNC) oluşturur.

Kandaki AMH'nin önceleri sadece biyoaktif formun (AMHNC) olduğu düşünülmekteydi. Ancak, 2013 yılında yapılan bir çalışmada erkek çocuklarının ve premenopozal kadınların kanında önemli miktarlarda hem pro AMH hem de AMHNC bulunduğu gösterilmiştir (8). Antimüllerian hormon aslında bir prohormon olarak sentezlenir ve etkisini biyolojik olarak aktif olan C terminal metaboliti üzerinden oluşturur (12).

1.2.2. Antimüllerian hormonun salınımı ve fonksiyonları

Antimüllerian hormon erkeklerde, fetal testisin sertoli hücrelerinden salgılanırken, dişilerde ovaryumda gelişmekte olan folikülün granüloza hücreleri tarafından salgılanmaktadır. Antimüllerian hormon erkeklerde müller kanalının gelişimini engelleyerek fetüsün dişi yönde gelişimini durdurmakta (13); dişilerde ise foliküler seçiminin inhibisyonunda rol oynamaktadır (6).

Antimüllerian hormonun etkisini sadece reproduktif organlarda gösterdiği düşünülmektedir ve AMH'nin en önemli etkisi müllerian kanalın regresyonunu sağlamaktır (14).

Erkek fetüsün sertoli hücrelerinde embriyogenezisle başlayan AMH sekresyonu yaşam boyu devam eder (15). İnrauterin hayatta erkek fetüsün gelişiminde önemli role sahip olan AMH, uterus, fallop tüpleri ve vajinanın gelişimini sağlayan müllerian kanalların gerilemesini ve normal erkek üreme sisteminin gelişmesini sağlar (16).

Gebelikte gonadotropin düzeyleri oldukça düşük olmasına rağmen gebelik öncesine göre AMH düzeylerinde değişiklik olmadığının gözlenmesi AMH'nin plasentadan sentezlenmediğinin kanıtıdır. Gebelikte ve puerperyumda AMH düzeyleri değişmemektedir (6). Ayrıca AMH seviyesi, endojen azalmış gonadotropin salınımının eşlik ettiği durumlardan (Gebelik, GnRH veya oral kontraseptif kullanımı vb.) etkilenmemektedir (8).

1.2.3. Antimüllerian hormonun folikül gelişimi üzerine etkisi

Antimüllerian hormon teka hücresi ve atretik foliküllerden sentezlenmemektedir (10). Primordiyal foliküllerde de, AMH ekspresyonu gözlenmez (8). Antimüllerian hormon ovaryumlarda gelişmekte olan primer, preantral ve antral foliküllerin granüloza hücrelerinde sentezlenir ve salgılanır. Folikül büyüdükçe salgılanması azalır ve 8 mm'den büyük foliküllerde salgılanması çok azdır. Bu hormonun salgılanması FSH'dan bağımsızdır. Antimüllerian hormonun foliküler gelişimi durdurucu etkisi de vardır (13). Folikül uyarıcı hormon etkisiyle gelişen folikülün büyümesini inhibe eder (15). Bir yandan primordiyal foliküllerde gelişmeyi önlerken diğer yandan foliküllerin FSH'ya duyarlılığını azaltarak etkisini gösterir. Antimüllerian hormon azlığında veya yokluğunda folikül havuzunda folikül seçilme hızı artar ve folikül havuzu hızla tükenir (13). Antimüllerian hormon folikül gelişmesini düzenleyen bir hormondur, öncelikle folikül havuzundaki primordiyal foliküllerin tükenmesini engellemektedir (16).

Bu hormonla ilgili yapılan temel çalışmalar, AMH'nin foliküllerin hormon üretiminde etkili olduğunu ve folikülogenezis sırasında, pubertasta preantral ve erken antral foliküllerin granüloza hücrelerinden salındığını göstermiştir.

Antimüllerian hormon erken primordiyal foliküllerde granüloza hücrelerinde saptanmakta ve antral foliküllerde pik seviyeye ulaşmaktadır (15). Antimüllerian hormon aşırı folikül gelişimini inhibe ederek folikülogeneziste önemli rol oynar. Preantral ve antral foliküllerin FSH duyarlılığını azaltır, büyümeye devam etmelerini preovulatör evreye ulaşmalarını engeller, sonuçta fizyolojik sınırlar içinde tutulmasını sağlar (17).

Atretik foliküllerde ve FSH bağımlı olan antral foliküllerde AMH yoktur. Lokal olarak üretilen bu hormon kana geçtiğinden sistemik dolaşımdaki düzeyleri ovaryumdaki konsantrasyonuna paraleldir (11).

1.2.4. Fertilite göstergesi olarak antimüllerian hormon

Antimüllerian hormon foliküler ve luteal fazda test edilebilen tek ovaryan rezerv göstergesidir (16).

Antimüllerian hormon parakrin etkilidir. Hipotalamus – hipofiz – gonad aksının *feed back* mekanizmasından etkilenmez. Gebelikte FSH baskılanırken AMH düzeyinde değişiklik gözlenmez (11).

Antimüllerian hormonu diğer hormonlardan ayıran başlıca özellik serum AMH düzeyinin siklus süresince değişmeden sabit kalmasıdır (13).

Kadınlarda sikluslar arası ve siklus içi en az değişkenlik gösteren belirtecin AMH olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Bu özelliği bizlere siklusun herhangi bir gününde değerlendirme yapma olanağı sağlamaktadır (6).

Antimüllerian hormon ovaryum rezervinin değerlendirilmesinde, ovaryum fonksiyonu ve pubertanın değerlendirilmesinde, kriptorşit ve anorşit tanısında, her

yaşta erkek gonat fonksiyonunun değerlendirilmesinde rutin olarak kullanılmaktadır (18).

Antimüllerian hormon granüloza hücre tümörlerinde belirteç olarak kullanılabilir. Antimüllerian hormon ölçüleriyle, granüloza hücre tümörlerinde nükslerin erken tespiti de yapılabilir (7).

Bunlara ilave olarak AMH'nin, ovaryan hiperstimülasyon sendromu teşhisinde ayrıca bu sendromun tedavisinde gonadotropinlerin doz ayarlanmasında kullanılabileceği de ortaya konulmuştur (13).

1.3. Kisspeptin

KiSS-1 geni 1990'lı yılların sonlarında tümör metastazlarını baskılayan bir gen olarak keşfedilmiş, bu nedenle metastin (Kisspeptin-54) olarak da adlandırılmaktadır (19, 20).

Amerika Birleşik Devletleri'nin Pensilvanya eyaletinde keşfedilen GPR54 (Kisspeptin reseptörü) ve KiSS-1 genine bu yörenin ünlü çikolata markası *Hershey Kisses*'e (öpücük) itafen "Kİ" eki getirilerek "kisspeptin" adı verilmiştir. KiSS genindeki "SS" harfleri baskılayıcı diziyi (*Suppressor sequence*) ifade etmektedir (21, 22, 23).

KiSS-1 gen ürünleri ile ilgili ilk çalışmalarda bazı kanser türlerinin metastazını baskılamasından dolayı KiSS-1 geninin 54 amino asitlik ürünü "metastin" olarak isimlendirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda ise kisspeptin-54'ün diğer formları saptanmış tümüne birden "kisspeptinler" adı verilmiştir (24).

1.3.1. Kisspeptinlerin etki mekanizması

Kisspeptinler fenil alanin amit yapıda peptit bir hormon olup, KiSS-1 geni (1q32) tarafından kodlanan ve G protein 54 reseptörüne tutunmuş hormonlardır (25).

KiSS-1 geninin ilk ürünü 145 amino asitten oluşan bir peptittir. Bu peptit kisspeptin-54'e dönüşmektedir ve kisspeptin-54'den de daha sonra kisspeptin-10, kisspeptin-13 ve kisspeptin-14 kısa formları oluşmaktadır (26). Kisspeptin-10, kisspeptin-13 ve kisspeptin-14 formlarının hepsi etkisini GPR54'e bağlanarak göstermektedirler (27).

Kisspeptinlerin GPR54'e bağlanması sonucunda fosfolipaz-C aktive olur ve hücreler arası inozitol 1,4,5 trisfosfat ve Ca^{+2} miktarı yükselir. Bunun sonucunda hipotalamik nöronlarından GnRH salınımı gerçekleşir. Kisspeptinler mitojen aktiviteli protein ve ekstraselüler sinyal düzenleyici protein yollarını uyararak apoptozisi artırır, hücre çoğalmasını ve metastazını azaltır (21, 28).

Beyindeki GnRH nöronlarında bulunan GPR54 reseptörlerine kisspeptinlerin bağlanması sonucunda hipofizer dolaşıma GnRH verilmesi sağlanır (29). GnRH bu şekilde hipofizden gonadotropinlerin (FSH, LH) salınımını uyarır (30).

Kisspeptin hormonu ile ilgili yapılan çalışmalarda kisspeptinin hipotalamus ve üreme fonksiyonlarındaki etkileri üzerinde durulmuştur (22). İnsanlarda çocukluktan ergenliğe geçişte kimyasal öpücük olarak nitelendirilen kisspeptin proteininin önemli rol aldığı bilinmektedir (21, 30).

KiSS-1 geni hipotalamusta kisspeptin sentezini sağlamakta ve pubertanın başlamasında önemli rol oynamaktadır (29). 2003 yılında kisspeptin hormonunun

eksikliğinde hayvanların cinsel olgunluğa ulaşamadığı ortaya konulduktan sonra bu hormonun hayvan ve insanlarda pubertasin başlangıcında çok önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır (23).

GPR54'ün zarar görmesine sebep olan mutasyonların, insanlar ve farelerde pubertasi engellediği ve fertilitede düşüşe sebep olduğu, dolayısıyla bu reseptörün pubertasta GnRH salınımı için gerekli olduğu bilinmektedir (31).

Arkuatik nukleustaki kisspeptin nöronlarının GnRH salınımında negatif *feed back* rolü üstlendikleri, anteroventral periventriküler nukleustaki kisspeptin nöronlarının ise pozitif *feed back*'e sebep oldukları ileri sürülmektedir. Primatlar, kemirgenler ve koyunlarda kastrasyon ya da ovaryektomi ile arkuatik nukleustaki kisspeptin ekspresyonu artmaktayken anteroventral periventriküler nukleustaki kisspeptin nöronlarının ise azaldığı görülmektedir (31).

1.3.2. Kisspeptinin doku dağılımı

Kisspeptinlerin merkezi sinir sistemi, testis, ovaryum, pankreas, bağırsak, karaciğer, kalp, akciğer, kas, böbrek ve plasentadan sentezlendiği bilinmektedir. Erkeklerde ve gebe olmayan kadınlarda plazma kisspeptin konsantrasyonu düşük, gebe olanlarda ise bu düzey önemli derecede artmaktadır.

Gebelikte kisspeptinin ana kaynağı plasentadır. Kisspeptinler insan plasentasında ilk olarak 2001 yılında tespit edilmiştir (24). Ovaryumlarda lokal olarak sentezlenen kisspeptin ovulasyonda rol alır ve GPR54'den yoksun olan dişiler de ovulasyon gerçekleşmez (27, 29).

Kan dolaşımındaki kisspeptinlerin kan-beyin bariyerini geçerek GnRH salınımı üzerine etki ederek faaliyet gösterdikleri bilinmektedir (24).

Ratlarda, farelerde, koyunlarda ve primatlarda olduğu gibi insanlarda kadın ve erkeklerde de kisspeptin verilmesinin gonadotropin düzeylerini artırdığı bilinir. Kisspeptin 54'ün kadınlarda subkutan enjeksiyonu ile hem LH hem de FSH düzeylerinde artış olduğu ileri sürülmektedir (31).

Kisspeptinlerin, GnRH aracılığıyla LH ve FSH salınımına sebep oldukları GPR54 mutasyonlu farelerde tespit edilmiştir. Ratlarda da gonadotropin düzeylerini yükselttikleri ve prepubertal dişilerde ovulasyona sebep oldukları bilinmektedir (31).

Kisspeptin/GPR54 eksikliği olan farelerde gonadotropin konsantrasyonunda azalma, infertilite ve anormal cinsiyet gelişimi sıklıkla görülmüştür (27). GPR54 delesyonuna sahip dişi farelerde pubertas ve vajinal açılmada gecikme, erkek farelerde ise testislerin küçüldüğü belirlenmiştir (31).

Güçlü ve spesifik kisspeptin agonistleri ve antagonistleri geç veya erken pubertas, endometriyozis, infertilite, meme ve ovaryum kanserleri gibi bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır (27).

Kisspeptinin santral veya periferik uygulanması hipotalamus-hipofiz-gonad aksı uyardığı, GnRH antagonistlerinin ise kisspeptinin LH, FSH üzerine olan santral ve periferik etkilerini bloke ettiği gösterilmiştir (23).

1.4. Ovaryum Hiperstimülasyonu

Ovaryum stimülasyonu, foliküler olgunlaşmayı sağlayan ve gebelik şansını artıran bir yöntemdir (32). Ayrıca, kontrollü ovaryum hiperstimülasyonu

uygulamalarından da çok sayıda ve kaliteli oosit elde edilmesi amaçlanmaktadır. (33).

İnsanlarda infertilite tedavisinde ovulasyonun gonadotropinlerle uyarılması kullanılan bir yöntemdir. Bu amaçla değişik protokoller kullanılmakla birlikte ciddi komplikasyonlarla da karşılaşılabilir (33). Ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS) ise insanlarda ender olarak rastlanan ölüm riski olan ve gonadotropinlerle ovulasyon uyarımı sonrası gelişen ciddi bir komplikasyondur (32, 34).

Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun oluşum mekanizması tam olarak bilinmemektedir ve yapılan tedavilerde genelde sonuçsuz kalmaktadır. Bu sendromun tedavisinde seksüel siklusları baskılayan yöntemler kullanılmaktadır. Ovaryan hiperstimülasyon sendromu sadece ovulasyon olan sikluslarda ve genellikle hCG uygulamasından 3-6 gün sonra ortaya çıkar. hCG uygulanmadan veya uygulanmasından çok sonra ortaya çıkan OHSS olguları da bildirilmiştir (33).

Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun oluşumunda kılcal damar permeabilite artışı gözlenir. Ovulasyonun uyarımı için hCG uygulaması ile renin-angiyotensin yolağının aktif hale gelmesi OHSS'nin ortaya çıkışında önemli rol oynar ve ortamdaki vasküler endotelial büyüme faktörü, endotelin 1 ve sitokinlerin ovaryumun kılcal damar geçirgenliğini artırarak proteinden zengin sıvının hücreler arası alana geçmesi de OHSS gelişimine sebep olur ve buna bağlı olarak elektrolit düzensizliği, emboli, şok ve ölüm şekillenebilmektedir (32, 35).

Ovaryan hiperstimülasyon sendrom gelişiminde uyarılan foliküllerin ve toplanan oositlerin sayısının fazla olması, polikistik ovaryum sendromu (PCOS) varlığı ve yüksek serum östradiol seviyesi de rol oynayabilmektedir.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun erken ve geç olmak üzere iki klinik formu bulunmaktadır. Erken başlangıçlı OHSS, ovaryumun cevabı ile ilişkilidir ve yüksek östradiol seviyesi ve uyarılmış çok sayıda folikülün bulunması ile bağlantılıdır. Geç başlangıçlı OHSS ise oositlerin toplanmasından yaklaşık 9 gün sonra ortaya çıkar ve çoğul gebelikle birlikte bulunur. Ovaryan hiperstimülasyon sendromu gelişen kadınlarda OHSS gelişmeyenlere göre 3 kat daha fazla gebelik tespit edilmektedir (32).

1.5. Kistik Ovaryum Dejenerasyonu

Kistik ovaryum dejenerasyonu (KOD), ovaryumlar üzerinde herhangi bir aktif lüteal doku olmaksızın, bir veya her iki ovaryum üzerinde oluşabilen, çapları türlere göre değişen, genellikle 10 günden daha uzun bir süre ovaryum üzerinde kalıcılığını devam ettiren ve ovaryum üzerinde buldukları sürede siklik aktiviteyi engelleyen, ovule olmamış preovulatör folikülleri içeren bozukluklardır. Bunun dışında hormonal olarak inaktif kistler ovaryumlar üzerinde tespit edilebilir ve bu kistler normal seksüel siklusları etkilemezler ve lüteal yapılarla birlikte bulunabilirler (36).

Kistler dinamik oluşumlardır ve bazı durumlarda kendiliğinden yok olabilirler. Buna karşılık bazı durumlarda ise bu yapılar bir veya her iki ovaryum üzerinde kalıcı hale geçerek üreme ile ilgili faaliyetlerin olumsuz şekilde

etkilenmesine yol açarlar (36). Genellikle KOD'un oluşumunda hipotalamus-hipofiz-ovaryumun birlikte oluşturduğu sistemde meydana gelen bir fonksiyon bozukluğunun rol oynadığı kabul edilir. Bu fonksiyon bozukluğunun oluşmasında genetik, fenotipik ve çevresel etkileri içeren birçok faktör rol oynar (37).

Genel olarak tüm dişilerde seksüel siklus sırasında FSH salınımı yeni bir foliküler gelişimin ortaya çıkmasına neden olur. Daha sonra tek bir folikül dominant folikül haline gelir. Bu folikülün ürettiği östrojenin hipofiz-hipotalamus üzerine pozitif *feed back* etkisi sonucu GnRH ve LH salınımı uyarılır.

Dominant folikül preovulatör seviyeye ulaştığında preovulatör östradiol salınımı şekillenir. Bu östradiol piki ovulasyonun oluşumunda önemli rol oynayan LH pikinin şekillenmesine neden olur. Bu süreçte bir aksama şekillenir, preovulatör östradiol, GnRH ve dolayısıyla LH salınımını uyarmada yetersiz kalırsa ve bunun sonucu olarak preovulatör LH piki şekillenmezse veya LH pikinin magnitudü de yetersiz olursa ya da preovulatör LH salınımının zamanlaması yanlış olur veya gecikir ise dominant folikül ovule olamaz, LH pulzasyonlarının devam etmesi sonucu büyümeye devam eder ve kistler şekillenir (36, 37).

Östradiolün pozitif *feed back* etkisine karşı hipotalamusta duyarsızlığın şekillenmesinin sonucu olarak prematüre GnRH/LH salınımının oluşması anovulasyona daha sonra da kistlerin gelişmesine yol açar (38).

Bu tez çalışmasında, siklusun östrüs ve diöstrüs evrelerinde bulunan, deneysel olarak kistik ovaryum dejenerasyonu ve ovaryum hiperstimülasyonu

oluşturulan ratların ovaryumlarındaki kisspeptin 1 reseptör düzeyleri ile kan serumlarındaki AMH ve KiSS-1 düzeylerini araştırmak amaçlandı.



2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvanlar

Bu çalışmada 200-250 gram ağırlığında, 2-4 aylık, 28 adet *Sprague Dawley* ırkı dişi rat kullanıldı. Hayvanlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edildi. Çalışma süresince hayvanlar gruplar halinde kafeslerde tutuldu ve gün boyu 12 saat karanlık, 12 saat ışık rejimi uygulandı. Hayvanlara yiyebildikleri kadar yem ve su verildi. Deneyler için kullanılan hayvanların düzenli seksüel siklusa sahip oldukları, arka arkaya yapılan vajinal irrigasyonlarda en az dört kez düzenli siklus gösterdikleri tespit edilerek kesinleştirildi. Çalışma için Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulundan Etik Kurul Raporu alındı (15.06.2016 - 2016/12).

2.2. Uygulama Grupları

Hayvanlar aşağıdaki gibi gruplandırıldı:

1. Grup: Östrüste olduğu tespit edilen hayvanlardan oluşturuldu (n=7)
(Östrüs grubu),
2. Grup: Diöstrüste olduğu tespit edilen hayvanlardan oluşturuldu (n=7)
(Diöstrüs grubu),
3. Grup: Ovaryum hiperstimülasyonu oluşturulan hayvanlar kullanıldı (n=7)
(HS grubu),

4. Grup: Kistik ovaryum dejenerasyonu oluşturulan hayvanlar kullanıldı (n=7) (KOD grubu).

Grup 1 ve Grup 2'deki hayvanlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nde bulunan dişi ratlar içerisinde vajinal irrigasyonla östrüste ve diöstrüste olduğu tespit edilenler arasından seçildi. Seksüel siklusların düzenlenmesi için herhangi bir senkronizasyon protokolü uygulanmadı.

2.3. Ovaryum Hiperstimülasyonunun Oluşturulması

Ratlarda ovaryum hiperstimülasyonu Musal ve ark.'nın (39) tarif ettiği şekilde oluşturuldu. Buna göre 40 IU PMSG (Folligon) intraperitoneal enjekte edildikten 48 saat sonra 20 IU hCG (Chorulon) yine intraperitoneal olarak enjekte edildi.

2.4. Kistik Ovaryum Dejenerasyonunun Oluşturulması

Ratlarda KOD Stener-Victorin ve ark.'nın (40) tarif ettiği şekilde oluşturuldu. Buna göre 4 mg östradiol valerate (Sigma β oestradiol 17 valerate; CAS 979-32-8) 8 haftalık dişi ratlara 0,2 ml susam yağı içerisinde kas içi olarak enjekte edildi.

2.5. Vajinal Irrigasyonlar

Vajinal irrigasyonlar Rişvanlı ve ark.'nın (41) tarif ettiği şekilde uygulandı. Lastik puar ve pipet ucu kullanılarak steril distile su ile irrigasyonlar yapıldı.

İrrigasyon sonrası elde edilen sıvı lam üzerine konarak 40X büyütmede mikroskopta incelendi. Hazırlanan preparatlardaki hücre tiplerinin yoğunlukları +, ++, +++ olarak değerlendirildi. Süperfizyal hücre yoğunluğu +++ olan hayvanların östrüste ve parabazal hücre yoğunluğu +++ olan hayvanların ise diöstrüste olduğu kabul edildi.

2.6. Laboratuvar Analizleri

Bir ve 2. gruptaki ratların kanları östrüs ve diöstrüste oldukları tespit edildiklerinde, 3 ve 4. gruptaki ratların kanları ise ovaryum hiperstimülasyonu ve KOD oluşturulduktan hemen sonra dekapite edilerek alındı. Dekapite edilen hayvanların kanları rutin işlemler sonrası serumları ayrılarak ölçümler yapılana kadar -20 °C'de saklandı. Yine hayvanların ovaryumları da ölçümler yapılana kadar -20 °C'de saklandı.

2.6.1. Antimüllerian hormon düzeyinin tespiti

Kan serumlarındaki AMH düzeyi ticari ELISA kiti kullanılarak (YL Biont Shanghai YLA0062RA), ELISA okuyucusunda (Bio Tek Instruments, USA) okutularak belirlendi.

2.6.2. Kisspeptin 1 düzeyinin tespiti

Kan serumlarındaki KiSS-1 düzeyi ticari ELISA kiti kullanılarak (Li StarFish Italy EA0873Ra), ELISA okuyucusunda (Bio Tek Instruments, USA) okutularak belirlendi.

2.6.3. Kisspeptin 1 reseptör düzeyinin tespiti

Ovaryumlardaki Kisspeptin 1 reseptör düzeyi ticari ELISA kiti kullanılarak (YL Biont Shanghai YLA1199RA), ELISA okuyucusunda (Bio Tek Instruments, USA) okutularak belirlendi. Ölçümler yapılmadan önce ovaryumlar aşağıda tarif edildiği gibi homojenize edildi.

2.6.3.1. Homojenizasyon

Derin dondurucuda (-20 °C) bulunan ovaryum dokuları çıkarıldı. 0,01 M fosfat buffer saline (pH 7,4) ile 1:10 oranında dilüe edilerek, 4 °C'de buz kalıpları içinde homojenizasyon yapıldı. Homojenizasyon işlemini takiben, 10 dakika 3.000 rpm'de santrifügasyon uygulanarak süpernatant kısımları ayrılarak ölçümler yapılabilmesi için kullanıldı.

2.7. İstatistik Analizler

Verilerin istatistiksel analizinde grup sayısının dört olması, farklı deneklerin kullanılması ve normal dağılımın olmamasından dolayı tek yönlü varyans analizinin nonparametrik karşılığı olan *Kruskal-Wallis* testi yapıldı. *Kruskal-Wallis* ile ortancaların eşit olmadığı ve önemliliğin 0,05'ten küçük olduğu gruplarda post hoc çoklu karşılaştırma yöntemi olarak, yanılma düzeyini aşağı çekecek, *Bonferroni* Düzeltilmiş *Mann-Whitney-U* testi ($p < 0,01$) uygulandı.

İstatistik analizler SPSS for Windows versiyon 22,5 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) paket programında yapıldı.

3. BULGULAR

Elde edilen verilerin istatistiki analizi sonucunda ovaryum dokusu üzerindeki kisspeptin 1 reseptör düzeylerinin östrüs (1.271,43±51,98 pg/ml) ve HS (1.191,43±85,67 pg/ml) grubunda daha fazla olduğu tespit edildi (p<0,05). Yine kan serumundaki en yüksek AMH düzeylerinin ise östrüs (16,91±2,12 ng/ml) grubunda olduğu belirlendi (p<0,05). Kan serumundaki KiSS-1 düzeyleri arasında ise gruplar arasında herhangi bir fark olmadığı tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 2: Kisspeptin 1 reseptör, AMH ve KiSS-1 konsantrasyonlarının gruplara göre dağılımı.

	Kisspeptin 1 reseptör pg/ml	AMH ng/ml	KiSS-1 pg/ml
Östrüs	1.271,43±51,98 ^a	16,91±2,12 ^a	412,86±124,01
Diöstrüs	651,43±147,35 ^b	2,71±0,24 ^b	649,29±119,60
KOD	594,29±159,10 ^b	2,64±0,18 ^b	595,71±110,34
HS	1.191,43±85,67 ^a	6,03±0,56 ^c	770,71±105,66
P	*	*	-

a,b, c: aynı sütundaki farklı harfleri taşıyan gruplar arasındaki farklılıklar önemlidir * p<0,05; - p>0,05

4. TARTIŞMA

Preantral folikül popülasyonunun bir belirteci olarak AMH'nin plazma seviyelerinin değerlendirildiği bir çalışmada (42) kisspeptinin 6 ve 10 aylık ratlarda plazma AMH'yi artırdığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada ratlarda kisspeptin uygulamalarının küçük antral folikül sayısını artırdığı bunun da özellikle sekonder ve küçük antral foliküllerden salgılandığı bilinen AMH düzeylerini yükselttiği ileri sürülmüştür.

AMH, PCOS patogeneğinde gizemli bir role sahiptir ve AMH düzeyindeki artış, PCOS'un ortak bir özelliğidir. AMH geninin hipometilasyonu olasılıkla AMH geninin intrinsik aşırı sentezlenmesine ve PCOS'da artmış AMH üretimine neden olur. Artmış AMH düzeyi, folikül büyümesini uyararak FSH salınımını inhibe ederek anovülasyona yol açar (43, 44). PCOS'lu kadınlarda serum AMH düzeyi artan preantral ve küçük antral folikül sayısına bağlı olarak yükselmektedir. Bu durum özellikle anovulator PCOS'lu kadınlarda AMH üreten küçük antral folikül sayısındaki artışa bağlı olarak daha çok göze çarpmaktadır (45). Emekci Ozay ve ark. (46) tarafından yapılan bir çalışmada PCOS'lu kadınlarda serum AMH düzeyi $5,93 \pm 4,93$ ng/ml olarak bulunmuş ve normal kadınlara göre bu değer daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür. Yine aynı çalışmada istatistik olarak önemli olmasa da PCOS'lu kadınlarda serum kisspeptin konsantrasyonunun normal kadınlara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada, kisspeptinin fizyolojik etkisi gereği GnRH aracıyla LH düzeyini artırdığı ayrıca PCOS'lu kadınlarda da LH düzeyinin yüksek olduğu

dolayısıyla bu sendroma sahip kadınlarda LH ve kisspeptin konsantrasyonunun yüksek olmasının doğal olduğu belirtilmektedir.

Cimino ve ark. (47) yaptıkları bir çalışmada fare ve insanlarda GnRH nöronlarının önemli bir alt grubunun AMH reseptörünü eksprese ettiği ve AMH'nin farelerde GnRH nöron uyarımını potansiyel olarak aktive ettiği belirtilmektedir. Aynı çalışmada, AMH'nin GnRH'ya bağlı LH pulsatilitesini ve sekresyonunu artırdığını ve GnRH nöronlarında AMH'nin merkezi bir etkisinin olduğu ayrıca bu bulgulara dayanarak, GnRH salınımının AMH'ye bağlı regülasyonun PCOS patofizyolojisinde rol alabileceği hipotezi ileri sürülmüştür.

Hayvan çalışmaları, başta androjen fazlalığı olmak üzere seks steroidlerinin uygun olmayan maruziyetlerinin gelişmenin erken evrelerinde PCOS patogeneziyle bağlantılı olabileceğini göstermiştir. PCOS'ta gözlenen nöroendokrin değişikliklere katkıda bulunan mekanizmalardan birinin hipotalamik KiSS-1 sisteminin özellikle steroidlere bağlı aksamalarıdır (43). Neonatal dönemde androjen uygulanmış dişi ratlarda PCOS'lu kadınlarınkine benzer metabolik ve üreme özellikleri ortaya çıkmaktadır. Bu durum, KiSS-1 sistemi üzerine seks steroidlerinin organize edici etkisine ve KiSS-1 nöronal popülasyonlarının uygun şekilde olgunlaşmasının beyin seks farklılaşması için anahtar rol oynamasına bağlanmaktadır (48, 49). Yine PCOS fare modeli ile ilgili bir çalışmada, PCOS'lu ratlarda hipotalamustaki kisspeptin pozitif hücrelerinin sayısının artışı gösterilmiştir (50). Ancak, buna rağmen hemen tüm yayınların sonunda PCOS'un tam olarak patogenezinin aydınlatılamadığı ısrarla belirtilmektedir. Sunulan tezde de kan serumu KiSS-1 düzeyleri KOD grubunda $595,71 \pm 110,34$ pg/ml olarak bulunmasına rağmen gruplar arasında istatistiki bir

fark bulunamamıştır. Ovaryum üzerindeki KR konsantrasyonu ise en fazla östrüs (1.271,43±51,98 pg/ml) ve HS grubunda (1.191,43±85,67 pg/ml) bulunmasına rağmen KOD grubunda ise 594,29±159,10 pg/ml olarak belirlenmiştir. AMH düzeyleri ise en fazla östrüs grubunda (16,91±2,12 ng/ml) tespit edilmiştir. KOD grubunda diğer yayınlara nazaran KR ve AMH düzeylerinin düşük olması, PCOS'un tam olarak patogenesizinin aydınlatılamamasına ve sonuçlardaki farklılıkların tür farklılığından da etkilenebileceğine bağlanabilir.

Ovaryan hiperstimülasyon sendromu, kadınlarda kontrollü ovaryum uyarımı sonrasında ortaya çıkan ciddi komplikasyonlardan biridir ve hayatı tehdit edici olabilir. Özellikle in vitro fertilizasyon (IVF) uygulamaları sonrası ortaya çıkan bu sendromun sebepleri tam olarak ortaya konamamıştır (51). Ovaryan hiperstimülasyon sendromunun kontrollü ovaryum uyarımı öncesinde yüksek serum AMH seviyeleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (52). La Marca ve ark. (53), kontrollü ovaryum uyarımına kötü yanıt nedeniyle IVF siklusu iptal edilen tüm hastaların düşük serum AMH düzeyine sahip olduğunu, buna karşın OHSS riski nedeniyle iptal edilen siklusları olanların ise en yüksek serum AMH düzeylerine sahip olduklarını bildirmektedirler. Bu veriler, AMH'nin ovaryum rezervinin uygun bir belirteci olmasının yanı sıra IVF siklusları için OHSS'yi tahmin etmede de yararlı olabileceği kanaatini uyandırmaktadır (51). Sunulan çalışmada da kan serumu KiSS-1 düzeyleri HS grubunda 770,71±105,66 pg/ml olarak bulunmasına rağmen gruplar arasında istatistiki bir fark bulunamamıştır. Ovaryum üzerindeki KR konsantrasyonu ise en fazla östrüs (1.271,43±51,98 pg/ml) ve HS grubunda (1.191,43±85,67 pg/ml) belirlenmiştir. AMH konsantrasyonları ise en fazla östrüs grubunda (16,91±2,12 ng/ml) ölçülmesine rağmen HS grubunda (6,03±0,56

ng/ml) KOD ($2,64 \pm 0,18$ ng/ml) grubuna nazaran daha yüksek tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar daha önceki literatürlerle uyum içindedir.

Sonuç olarak; ovaryum dokusu üzerindeki KR düzeylerinin östrüs ve HS grubunda; kan serumundaki en yüksek AMH düzeylerinin ise östrüs grubunda olduğu tespit edildi. Kan serumundaki KiSS-1 düzeyleri arasında ise gruplar arasında herhangi bir fark olmadığı belirlendi.

Elde edilen bu veriler ışığında, ratlarda östrüs gibi fizyolojik dönemlerde ölçülen AMH ve KiSS-1 düzeylerinin deneysel olarak KOD ve HS oluşturulan ratlara nazaran daha yüksek olduğu ve benzer çalışmaların diğer hayvan türlerinde de tekrar edilmesinin yararlı olacağı kanaatine varıldı.

5. KAYNAKLAR

1. Soylu SM. Rat fizyolojisi. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2010;23: 22-25.
2. Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. Ratlarda üreme. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2010; 40: 39-44.
3. Öner Z. Endometriosis'te İmplantasyon Değişikliklerinin İmmünohistokimyasal Analizi. Yüksek Lisans Tezi, Malatya: Anatomi Anabilim Dalı, İnönü Sağlık Bilimleri Enstitüsü 2011.
4. Sarıyıldız L. Puberta Öncesi ve Sonrası Sağlıklı Kız Çocukları, Over Kistli Yetişkinler İle Hamilelerde AMH Ve Diğer Biyokimyasal Parametrelerin Karşılaştırılmalı Araştırmaları. Doktora Tezi, Konya: Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.
5. Bolat SE. Oosit Aspirasyon Günü Serumda ve Folikül Sıvısında Anti Müllerien Hormon, Östradiol ve Toplanan Oosit Sayısı Arasındaki Korelasyonun Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Bolu: Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2014.
6. Mutlu MF, Mutlu İ, Efeturk T. Ovaryan rezerv testi; anti mülleryan hormon. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*, 2013; 44: 11-13.
7. Raoufi J. Polikistik Over Sendromlu Hastalarda AMH Düzeyini Etkileyen Faktörler. Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2013.
8. Doğan BS. İn Vitro Fertilizasyon Ve Embiyo Transferi Sikluslarında Folikül Sıvılarında Anti-Müllerien Hormon (AMH) Ekspresyon Ve Aktivasyon Düzeyleri İle Oosit Matürasyonu, Kalitesi Ve Gebelik Sonuçları Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi, İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2014.
9. Yeniçeri H. Anti- Müllerien Hormonunun (AMH) IVF Hastalarında Over Rezervini Belirlemekteki Rolü. Uzmanlık Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2011.
10. İlhan R. İn Vitro Fertilizasyon Sikluslarında Ovaryan Yanıtın Prediksiyonunda Anti-Mülleryan Hormon ve Sitokinlerin Yeri. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, 2014.
11. Şahin NM. Kızlarda Santral Puberte Prekoks ve Prematür Telaarşta Antimülleryan Hormonun Rolü. Yandal Uzmanlık Tezi, Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Endokrin Bilim Dalı, 2014.
12. Demir M. Over rezerv tayininde en iyi belirteç: Anti- müllerien hormon (AMH). *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2013; 11: 79-85.
13. Kırıl C. IVF Uygulamalarında Hormonal Parametrelerin Oosit ve Embriyo Gelişimi Üzerinde Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Klinik Embriyoloji Programı, 2015.

14. Mutlu MF. Yardımcı Üreme Teknikleri ile Tedavi Edilen Olgularda Anti Mülleryan Hormon Düzeyinin Kötü Over Yanıtını Belirlemedeki Tanısal Değeri. Uzmanlık Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2009.
15. Ünal F. Ratlarda Siklofosfamide Bağlı Ovaryan Toksisitenin Azaltılmasında N-Asetilsistein ile Arttırılmış Hücre İçi Glutasyon Düzeyinin Rolünün Araştırılması. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, 2009.
16. Büyükkaba M. Obezlerde Bariatrik Cerrahi Sonrası Kilo Vermenin Anti-Müllerian Hormon Düzeyi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2015.
17. Şimşek EUD. Antimüllerian Hormonun İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Sikluslarında Over Rezervini Belirlemedeki Rolü ve Antral Folikül Sayısı Arasındaki İlişkisi. Uzmanlık Tezi, Konya: Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2014.
18. Bakacak ZB. Antimüllerian Hormonun IVF Sikluslarında Over Rezervini Belirlemedeki Rolü. Uzmanlık Tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, 2005.
19. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. J Biol Chem 2001; 276: 34631-34636.
20. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. J Biol Chem 2011; 276: 28969-28975.
21. Çetin D. Prematür Telaarşın Oluşumunda Plazma Kisspeptin Düzeyinin Rolü. Uzmanlık Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2011.
22. Dinç SE. Dişi Sıçanlarda Kisspeptin Ve Aromataz İnhibisyonunun Kognitif Fonksiyonlar Ve Davranış Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, 2013.
23. Aluçlu MA. Pübertal Jinekomasti Olgularında Plazma Kisspeptin Düzeyi. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2011.
24. Artaş ZD. Gebeliğin Hipertansif Hastalıklarında Serum Sitokin Ve Plazma Kisspeptin Düzeylerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2009.
25. Taşkiran N. Prepubertal Dönemde Dişi Sıçanlarda Melatonin/Kisspeptin Etkileşiminin Puberta Yaşına ve Ovulasyonda Görevli Hormonlar Üzerine Etkisinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Afyonkarahisar: Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2014.
26. Yazıcı P. Eksitator-İnhibitör Aminoasitlerin, Leptin ve Kisspeptin Düzeylerinin Uyku Profili Ile Değerlendirilmesi ve Püberte Prekoks Gelişimi Üzerine Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Manisa: Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2011.
27. Kaya A. Yeni Doğan Döneminde Meme Büyümesi Olan Bebeklerde Plazma Kisspeptin Düzeyleri. Uzmanlık Tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2014.

28. Kavvasođlu Ő. Abortus Imminens Tanısıyla Takip Edilen Gebelerde Plazma Kisspeptin Düzeylerinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, 2010.
29. Kurnaz E. Puberte Bozukluklarında Plazma Kisspeptin ve Ghrelin Düzeyleri. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2010.
30. Durnaz A, Dikmen N. Chemical kisses: Kisspeptin. Archives Medical Review Journal 2007; 16: 172-184.
31. Kafa İM, Eyigör Ö. Kisspeptinler ve kisspeptin nöronları üreme sistemi üzerine etkileri ve hipotalamik yerleşimleri. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2011; 37: 53-60.
32. Özdemir S, Cihangir N, Çolakođlu MC. Çoğul gebeliğin eşlik ettiği ciddi bir ovaryan hiperstimülasyon sendromu olgusu. Genel Tıp Dergisi, 2009; 19: 37-39.
33. Tatar HK. Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon Uygulanan Olgularda Ovaryan Hiperstimülasyon Sendromu Görülme İnsidansı. Uzmanlık Tezi, Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı, 2011.
34. Dübüş T, Boran AB. Nadir bir plevral efüzyon nedeni over hiperstimülasyon sendrom olgusu. İstanbul Tıp Dergisi 2012; 35: 86-88.
35. Soydiñ HE, Evsen MS, Sak ME, Gül T. Gebelikte asidin nadir sebebi spontan ovaryan hiperstimülasyon sendromu. Van Tıp Dergisi 2012; 19: 86-89.
36. Peter AT. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. Reprod Dom Anim 2004; 39: 1-7.
37. Vanholder T, Opsomer G, De Kruif A. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review. Reprod Nutr Develop 2006; 46: 105-119.
38. Gümen A, Sartori R, Costa FMJ, Wiltbank MC. A GnRH/LH surge without subsequent progesterone exposure can induce development of follicular cysts. J Dairy Sci 2002; 85: 43-50.
39. Musal B, Erdođan G, Tuna B. Effects of pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and human chorionic gonadotrophin (hCG) induced follicular growth on vaginal smear findings in wistar rats. Uludag University Journal of Faculty Veterinary Medicine 2003; 22:1-5.
40. Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson BM, Holmång A. Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity. Reprod Biol Endocrinol 2005; 3:44-53.
41. Rişvanlı A, Aydın M, Kaygusuzoğlu E, Timurkan H. The effect of thyroidectomy on sexual cycle and pregnancy rates in rats. Turkish J Vet Anim Sci 2003;27:873-877.
42. Fernandois D, Na E, Cuevas F, Cruz G, Lara HE, Paredes AH. Kisspeptin is involved in ovarian follicular development during aging in rats. J Endocrinol 2016; 228: 161-170.
43. Filippou P, Homburg R. Is foetal hyperexposure to androgens a cause of PCOS? Hum Reprod Update, 2017; 1: 1-12.
44. Cook CL, Siow Y, Brenner AG, Fallat ME. Relationship between serum Mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovarian syndrome and normal women. Fertil Steril 2002; 77: 141-146.

45. Pellatt L, Hanna L, Brincat M et al. Granulosa cell production of anti-Mullerian hormone is increased in polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metabol* 2007; 92: 240–245.
46. Emekci Ozay O, Ozay AC, Acar B, Cagliyan E, Seçil M, Kume T. Role of kisspeptin in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecol Endocrinol* 2016; 32: 718-722.
47. Cimino I, Casoni F, Liu X et al. Novel role for anti-Müllerian hormone in the regulation of GnRH neuron excitability and hormone secretion. *Nature Comm* 2016; 7: 10055.
48. Gonzalez-Martinez D, De Mees C, Douhard Q, Szpirer C, Bakker J. Absence of gonadotropin-releasing hormone 1 and Kiss1 activation in alphetoprotein knockout mice: prenatal estrogens defeminize the potential to show preovulatory luteinizing hormone surges. *Endocrinology* 2008; 149: 2333–2340.
49. Gill JC, Wang, O, Kakar S, Martinelli E, Carroll RS, Kaiser UB. Reproductive hormone-dependent and -independent contributions to developmental changes in kisspeptin in GnRH-deficient hypogonadal mice. *PLoS One*, 2010; 5: e11911.
50. Kondo M, Osuka S, Iwase A et al. Increase of kisspeptin-positive cells in the hypothalamus of a rat model of polycystic ovary syndrome. *Metabol Brain Dis* 2016; 31: 673–681.
51. Lee TH, Liu CH, Huang CC et al. Serum anti-Müllerian hormone and estradiol levels as predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod* 2007; 23: 160-167.
52. Nakhuda GS, Chu MC, Wang JG, Sauer MV, Lobo RA. Elevated serum mullerian-inhibiting substance may be a marker for ovarian hyperstimulation syndrome in normal women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2006; 85:1541-1543.
53. La Marca A, Giulini S, Tirelli A et al. Anti-Mullerian hormone measurement on any day of the menstrual cycle strongly predicts ovarian response in assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 2007; 22: 766-771.

6. ÖZGEÇMİŞ

Çorum'da 1990 yılında doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Amasya Gümüşhacıköy'de, Kemal Paşa İlköğretim Okulu'nda tamamladım. Lise öğrenimimi Hamamözü ilçesinde, Hamit Kaplan Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2010 yılında başladığım Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2015 yılında mezun oldum. 2015 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladım.