

**REPRODÜKTİF YAŞAM SIKLUSU: FOLİKÜLOGENEZ VE MENSTRUASYON**

Özgür ÖKTEM, Bülent URMAN

Vehbi Koç Vakfı Amerikan Hastanesi, Kadın Sağlığı Merkezi, İstanbul

**ÖZET**

*Folikülogenez ve menstrual siklus sadece üreme tıbbının değil aynı zamanda genel jinekolojinin en temel konusudur. Normal reproduktif fonksiyon, overde folikül gelişimi, dominant folikülün seçilmesi, ovulasyon ve endometriyumun implantasyon için hazırlanması aşamalarını içerir. Bu şekilde olan düzenli ovuluar sikluslar, hipotalamus, hipofiz ve overden gelen uyarıcı ve inhibe edici sinyallerin çok hassas bir şekilde entegrasyonu ile sağlanır. Yani hipotalamo-hipofiz-ovaryen aksın eş zamanlı senkronize olarak çalışmasına ihtiyaç vardır. Gonadotropin-releasing hormon (GnRH) medial bazal hipotalamus bölgesinden pulsatil olarak salınarak hipofiz (pitüiter) portal sisteme gönderilir. Bu sayede GnRH anterior hipofiz bezinden FSH (follicle stimulating hormone) ve LH (luteinizing hormone) hormonlarının sistemik dolaşıma salınmasına yol açar. FSH ve LH overde folikül büyümesi, ovulasyon ve korpus luteum oluşumunu sağlarken aynı zamanda foliküllerden östradiol, progesteron ve inhibin gibi hormonların koordine salınımından da sorumludurlar. Ovaryen steroidler endometriyumu olası bir implantasyon için hazırlarken, diğer taraftan da hem hipofizer düzeyde FSH ve LH, hemde hipotalamik düzeyde GnRH salınımlarını negatif feedback yoluyla kontrol ederler. Overde folikül büyümesinin erken evreleri gonadotropinlerden bağımsız olarak lokal olarak üretilen büyüme faktörlerinin etkisi ile otokrin-parakrin etkileşimlerle sağlanmaktadır. Bu sayede antral aşamaya ulaşan foliküllerden oluşan bir kohortun içinden sistemik gonadotropin uyarısı ile seçilen bir dominant folikül ovuluar aşamaya ulaşmaktadır. Bu bölümde oositin en temel formu olan primordial germ hücrelerinin oluşumundan başlanarak sırası ile folikül oluşumu, büyümesi, dominant folikül seçimi ve ovulasyona kadar rol alan faktörler ve hormonlar ile menstrual sıklustaki endometrial değişimler, implantasyon mekanizmaları ve belirteçleri son güncel verilerin ışığında ayrıntılı olarak verilmiştir.*

**Anahtar kelimeler:** folikülogenez, implantasyon, menstruasyon

*Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2012; Cilt: 9 Sayı: 1 Sayfa: 1- 24*

**SUMMARY****REPRODUCTIVE LIFE CYCLE: FOLLICULOGENESIS AND MENSTRUATION**

*Learning folliculogenesis ve menstrual changes thoroughly is of paramount importance in order to understand and approach a wide range of gynecologic disorders in a contemporary manner. Development of follicles, selection of the dominant follicle and ovulation along with synchronized endometrial changes are prerequisites for normal reproductive function and perpetuation of species. An orchestrates of stimulatory and inhibitory signals originating from hypothalamus, hypophysis and the ovaries and their well balanced actions are required for this function. Quiescent primordial follicles are recruited as primary follicles, which continue to grow until they reach gonadotropin responsive antral stage where after another wave of cyclic recruitment occurs to select a cohort of antral follicles for further growth, dominance and ovulation. What triggers the initiation of growth in primordial follicles remained*

**Yazışma adresi:** Uzm. Dr. Özgür Öktem, Güzelbahçe sok. no: 20, Nişantaşı, 34365, İstanbul

Tel.: (0533) 955 38 30

e-posta: ozgurok@amerikanhastanesi.org

Alındığı tarih: 18.04.2010, revizyon sonrası alınma: 18.04.2011, kabul tarihi: 11.08.2011, online yayım tarihi: 08.12.2011

*a mystery for decades. But now a growing body of evidence suggests that rather than a single hormone or signaling pathway an orchestrate of many signals arising from different compartments in the ovary such oocyte, granulosa and theca cells and stroma coordinate the activation of primordial follicles and the early stages of follicle growth. Furthermore these locally produced hormones can modify the response of the growing follicles to gonadotropins; may act as luteinization inhibitors at later stages of follicle growth; and thence may influence the success of assisted reproduction techniques in human. In response to gonadal sex steroids secreted by growing and dominant follicles prepare endometrium for a possible conception along with a laundry list of locally produced factors in the endometrium. We aimed in this article is to provide one of the most comprehensive update on folliculogenesis, menstrual changes and implantation.*

**Key words:** folliculogenesis, implantation, menstruation

*Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2012; Vol: 9 Issue: 1 Pages: 1- 24*

## FOLİKÜLOGENEZ

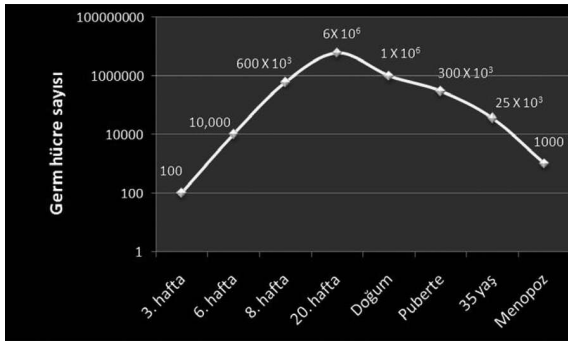
Bir kadının üreme yeteneğinin ne kadar süreceğinin overlerindeki primordial foliküllerin sayısı belirler. Dorman fazda bekleyen primordial foliküller primer foliküllere dönüşerek büyümeye başlayarak sırası ile preantral ve antral aşamaya ulaşırlar. Antral aşamaya ulaşan foliküllerden oluşan bir kohort gonadotropinlerin etkisi ile büyümeye başlayarak dominant folikül seçimi ve ovulasyon ile sonuçlanacak yaklaşık 2 hafta süren kısa bir yolculuğa çıkarlar. Genel olarak gonadotropinlerin stimülasyonu ile olan ve endokrin kontrol altında olan folikül büyümesinin antral ve sonrasına büyüme aşamaları iyi anlaşılmıştır. Ancak ne varki antral evre öncesi folikül büyümesini yöneten faktörler ile primordial foliküllerin büyümeye başlamasını neyin tetiklediği yıllarca bilinmezliğini korumuştur. Son yıllarda elde edilen veriler göstermektedir ki primordial bir folikülden antral folikül oluşumu tek bir hormon veya sinyal yolağından ziyade gonadotropinlerden bağımsız olarak overde lokal olarak üretilen büyüme faktörlerinin etkisi ile aylar içinde gerçekleşmektedir. Primordial folikülleri sessiz (dorman) fazda tutan inhibitör sinyaller yanında büyümelerini aktive eden faktörlerde mevcuttur. Üstelik bu faktörler foliküllerin gonadotropinlere olan yanıtlarının modifikasyonu ve luteinizasyonun inhibisyonu gibi görevlerde üstlenmektedirler. Başlangıçta sayıları yüz kadar olan germ hücreleri gebeliğin ortasında milyonlara ulaşır ardından atreziye bağlı olarak menopozda rezerv tükeninceye kadar harcanarak kaybolmaktadırlar. Sadece 300-400 tanesi ovulasyon aşamasına kadar gelebilen bu hücrelerin neden milyonlarcasının üretildiği üreme tıbbının en bilinmeyen denklemlerinden biridir. Ve yine son yıllarda üreme

tıbbının en temel dogmalarından biri olan memeli overinde belli sabit sayıda oosit olduğu ve bunların yenilenmediği görüşüne meydan okurcasına postnatal oogenez ile ilgili çarpıcı çalışmalar bulunsada insanda yardımcı üreme tekniklerinin başarısında henüz bir belirleyicilikleri olmamıştır. Bu bölümde üreme fiziolojisinin en temel kavramlarından olan over yaşam döngüsünün germ kök hücre oluşumundan ovulasyona kadarki kısmı ile postnatal oogenez hakkında güncel bilgiler sunulması amaçlanmıştır.

### Primordial Germ Hücreleri

Oositlerin en temel başlangıç öncüleri (progenitor) olan primordial germ hücreleri (PGH) ekstraembryonik ektoderme komşu proksimal epiblasttan ekstraembryonik ektodermal orijinli bone morphogenetic proteinler (BMP) 4 and 8b, ile ekstraembryonik endodermal kaynaklı BMP2 sinyali ile gelişmektedir<sup>(1-3)</sup>. BMP4 e yanıt olarak epiblast germ hücre özellikleri kazanmaktadır. Germ hücre kompetansının kazanılması interferon ile uyarılan bir transmembran proteini olan Fragilis' in germ hücresi üzerinde eksprese olması ile başlar. Fragilis daha sonra germ hücrelerinin arka barsak (hindgut) mezenterisi üzerinden gonada yolculuğu esnasında sadece germ hücrelerinde bulunan Stella isimli genin ekspresyonu uyararak somatik hücre yazgısından (somatic cell fate) kaçılması ve pluripotensinin (tüm hücre tiplerine dönüşebilme, fetus ve plasentayı oluşturabilme yeteneği) devam ettirilmesini sağlar<sup>(4,5)</sup>. PGH ilk olarak insanda 3-4 gebelik haftalarında (postkonsepsiyonel) yolk sak dorsal duvarının endoderminde 100 kadar hücre olarak kendilerini belli ederler. Endodermal hücrelerden daha büyük olmaları, daha az organel içeren şeffaf sitoplazmaları ile diğer hücre gruplarından ayırt edilirler

(6). 7. haftaya kadar gonadın germ hücreleri ile kolonizasyonu tamamlanır. Aslında germ hücreleri overin oluşumu ve devamı için gereklidir zira hiç germ hücresi veya oosit olmayan over dokusu kord benzeri yapılara dejenere olmaktadır<sup>(7)</sup>. Gonada ulaşan PGH daha hızlı mitoz göstererek sayıları kısa sürede 6. haftada 10 bin iken 8. haftada 600 bine, 20. haftada ise 6 milyona ulaşır. Bu dönemden sonra mitoz azalır 28. haftada sona erer ve eş zamanlı başlayan atrezi 20 haftada pik yapar. Bu sebeple 20. haftadan sonra germ hücre sayısı düşmeye başlar, yenidoğanda 1 milyon, pubertede 300-400 bin kadarı kalır. Sadece %1 i ovulatar aşamaya kadar ulaşan bu hücrelerin çoğu atreziye gider ve menopoz sonrası bin kadar overde kalır (Figür 1)<sup>(8)</sup>. Germ hücresinden folikül oluşumu ve aktivasyonuna kadarki süreçte rol alan genler, transkripsiyon faktörleri tabloda özetlenmiştir (Tablo).



**Figür 1:** Germ hücrelerinin yolculuğu. Bir kere spesifik olarak gonada göç ederken çoğalmayada devam ederler. Sayıları eksponansiyel bir artış ile 8. haftada 600 binden 20. Haftaya gelindiğinde 6-7 milyona çıkar. Bu haftadan itibaren atreziden dolayı sayıları giderek azalır ve sadece %1 kadarı ovulasyona gider.

### Postnatal Oogenez

Üreme tıbbının belkide en temel dogması over dokusunda belli sayıda oosit olduğu ve bunların sayısının artırılmasının mümkün olmadığıdır. İlk 1870'lerde temeli atılan bu doktrin<sup>(9)</sup> 1950 lerde daha da kristalize edilmiştir<sup>(10)</sup>. Ancak ne varki son yıllarda yapılan bir seri çalışmada bu dogmanın ne kadar doğru olduğu sorgulanmaya başlanmıştır<sup>(11-13)</sup>. Aslında postnatal oogenez kavramı ilk olarak farede 1923 yılında<sup>(14)</sup> ve ardından insanda 1932 yılında ortaya atılmıştır<sup>(15)</sup>. Tilly ve ekibi periferik kan ve kemik iliğinde varsayımsal germ hücrelerinden oositlerin rejenerasyonu göstererek postnatal oogenez fikrini yeniden canlandırdılar. Kemoterapi ile sterilize edilmiş

fare overinde sağlıklı ve atretik folikülleri sayarak folikül sayısında hızlı bir artış olduğunu ve 2. ayın sonunda kontrol ile kemoterapi almış overlerde folikül sayılarının hemen hemen aynı olduğunu buldular. Üstelik kemoterapi ile overleri ablate edilerek tüm oositleri yok edilmiş fareler kemik iliği nakli uyguladıklarında oosit yapımının yeniden oluştuğunu gözlediler. Dahası yeşil floresan protein (GFP) ekspres eden transjenik fareden kemoterapi ile overleri sterilize edilmiş normal fareye periferik kök hücre nakli yapıldığında bu hayvanların overlerinde oositleri GFP sinyali veren primordial foliküller oluşmuştur. Kemik iliği nakli gonadotoksik siklofosamid verilmiş farede fertilitiyeti korumuş ancak tüm fare yavruları donor germ hücresinden oluşmuştur<sup>(11-13)</sup>. Bu sonuçlar bilim dünyasında ve basında çok büyük bir yankı bulmakla kalmamış aynı zamanda tartışmalarda başlatmıştır. Kimileri over yüzey epitelinde mevcut germ hücrelerinin periferik kana geçerek kemik iliği örneklerinde gözlenen germ hücre belirteçlerinin pozitif çıkmasına neden olduğunu savunmuşlar<sup>(16,17)</sup>, kimileri ise çoğalmakta olan oositlerin aslında yanlış tanımlanmış immün hücreler olduğunu iddia etmişlerdir<sup>(18)</sup>. Bir kısmı ise atretik primordial folikül sayımında hata yapıldığına inanmış<sup>(19)</sup>; veya kemoterapiden sonra nasıl 2 günde folikül yenilenmesi olduğuna şüphe ile bakmış<sup>(17)</sup>; veya insan overinde aktif mayoz bulgusuna rastlamamıştır<sup>(20)</sup>. Bu konuda tartışmalara devam ederken yeni bir çalışmada fare modelinde oosit ve yavru fareler female germ hücrelerinden elde edilmiştir<sup>(21)</sup>. Çalışmada öncelikle germ kök hücreler fareden izole edilip 6 ay kültüre edilmiş, ardından bu hücreler GFP taşıyan virus ile transfekte edilerek kemoterapi ile sterilize edilmiş fareye nakledilmişlerdir. Nakledilen farelerde oogenez olmuş ve GFP geni taşıyan fareler doğurmuşlardır. Bu sonuçlar erişkin memelilerde germ kök hücrelerinin bulunduğunu ve en azından belli deneysel şartlarda bu hücrelerin fertilize olup canlı doğumla sonuçlanacak yetenekte oosit üretimi sağladığını göstermektedir.

Halehazırda bu hücrelerin biyolojik önemleri, over fonksiyonu ile ilişkileri; farede gözlenen bu olayın insan overinde geçerli olup olmadığını veya insanda da benzer kök hücreler olup olmadığını bilmiyoruz. Ancak gelinen nokta reproduktif yaşlanma ve/veya kemoterapi/radyoterapiye bağlı erken ve kalıcı over yetmezliğinin önlenmesinde belkide bir çare olma

**Tablo:** Germ hücresi ve primordial folikül oluşumundan aktivasyonuna kadar rol alan genler ve faktörler tabloda sunulmuştur.

GEN	ROLÜ PRİMORDİAL GERM HÜCREŞİ OLUŞUMU	FONKSİYONU
BMP-2 (Bone morphogenetic protein-2)	TGF-β üyesi Extraselüler büyüme faktörü	Primordial germ hücresi oluşumu [1]
BMP-4 (Bone morphogenetic protein-4)	TGF-β üyesi Extraselüler büyüme faktörü	Primordial germ hücresi oluşumu [1, 135]
BMP-8B (Bone morphogenetic protein-8B)	TGF-β üyesi Extraselüler büyüme faktörü	Primordial germ hücresi oluşumu [2-3]
Fragilis	Interferon ile uyarılan bir gen	Germ hücre kompetansı [4]
Stella	A protein with a SAP-like domain and a splicing factor motif-like structure	Germ hücre özelliği ve pluripotensin korunması [5]
Smad-1	TGF-β ligandlarının hücre içi sinyalizasyon molekülü	Primordial germ hücresi oluşumu [136]
Smad-5	TGF-β ligandlarının hücre içi sinyalizasyon molekülü	Primordial germ hücresi oluşumu [137]
Nanos3	RNA-bağlayan çinko parmak (zinc-finger) proteini	Göç esnasında germ hücre dizlerinin korunması [138]
Blimp1(Prdm1)	Transkripsiyonel baskılayıcı	Primordial germ hücresi oluşumu [139]
Prdm14	Transkripsiyon düzenleyicisi	Primordial germ hücresi oluşumu [140]
TIAR	Bir RNA tanıma motifi/ribonükleoprotein tip RNA bağlayıcı protein	Primordial germ hücresi oluşumu [141]
Pog	Bilinmiyor	Primordial germ hücresi proliferasyonu [142]
Stra8	Sitoplazmik bir faktör	Mayoz öncesi DNA sentezi ve mitozun ilerlemesi [27]
W (c-kit receptor) and Steel (kit ligand)	Tirozin kinaz reseptör Büyüme faktörü	Primordial germ hücre migrasyon ve proliferasyonu [143-144]
Leukemia inhibitory factor (LIF)	Çoklu değişken etkili bir sitokin	Primordial germ hücre proliferasyonu [63]
<b>PRİMORDİAL FOLİKÜL OLUŞUMU VE AKTİVASYONU</b>		
Figalpha	Transkripsiyon faktörü	Primordial folikül oluşumu [145] Zone pellucida (ZP) gen ekspresyonu [146]
Notch	Sinyal yolu	Primordial folikül oluşumu [147]
Daz1a	Sitoplazmik protein	Primordial folikül oluşumu [148]
Nerve Growth Factor	Büyüme faktörü	Primordial folikül oluşumu [149]
SPO11 (sporulation protein homology)	Mayoz proteini	Primordial folikül oluşumu [150]
DMC1 [disrupted meiotic cDNA 1 homologue (human)]	Mayoz proteini	Primordial folikül oluşumu [149]
MSH5 [mutS homologue 5 (Escherichia coli)]	Mayoz proteini	Primordial folikül oluşumu [149]
Zfx	Çinko parmak proteini	Primordial folikül oluşumu Oosit yaşamı and proliferasyonu [151]
ATM	Phosphatidylinositol 3-kinaz (PIK)-benzeri kinazların bir üyesi	Mayotik rekombinasyon Mitotik hücre siklus regülör kinazı DNA hasarı ile uyarılan mitotik hücre siklus kontrol noktası [152]
Nobox	An oosit-spesifik homeobox geni	Nobox olmadığında folikül atrezisi [66]
Foxo3	Forkhead transkripsiyon faktörü	Primordial folikül aktivasyonu [67]
Antimüllerian hormone (AMH)	TGF-β üyesi	Primordial foliküllerin primer aşamaya dönüşümü AMH geni olmayan farede artmaktadır. Bu bulgu AMH nin primordial primer dönüşümünde inhibitör rolünü desteklemektedir. [42-43] Klinik te over rezervinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Kan AMH düzeyi overdeki antral folikül sayısı ile korelasyon göstermektedir.
PTEN-PI3K	PTEN, bir tümör süpresör geni (Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10), phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) isimli enzimin major negative regülatörü	PTEN yokluğunda farede tüm primordial foliküller aktive olmakta, erken erişkin döneme geldiklerinde rezerv tamamen tükenerek erken over yetmezliği (premature ovarian failure (POF)) tablosu gelişmektedir. [35] PTEN geninde germ hücre dizilerindeki mutasyon ise Cowden hastalığı olarak bilinen nadir görülen bir otozomal dominant hastalığa yol açar. Cilt, meme, barsak ve tiroide çok sayıda hamartom oluşumu yanında meme uterus tiroid ve beyin kanserlerinde artış ile karakterizedir. [41]
Tsc/mTORC1 signaling	Tumor suppressor tuberous sclerosis complex 1 (Tsc1),	mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1)'i negatif olarak regüle ederek primordial folikülleri sessiz fazda tutar. Tsc1 geni mutant farede primordial foliküller aktive olarak tüm folikül havuzu erkenden yok olup erken over yetmezliği (premature ovarian failure (POF)) tablosu gelişmektedir. [34]
p27	cyclin-dependent kinase (Cdk) inhibitor 1B (p27(kip1))	p27 olmadığında primordial foliküller prematür olarak aktive olmakta ve granuloza hücreleri diferansiyasyona uğramaktadır. Sonuçta erken over yetmezliği tablosu gelişmektedir. [37]
Foxl2	winged-helix transkripsiyon faktörü	Foxl2 geni olmadığında oositler prematür olarak aktive olmakta, pre-granuloza hücreleri diferansiyasyon olmamaktadır. Buna karşın pimer foliküller gelişmemektedir. [153]

potansiyeli taşıdığı göstermektedir<sup>(22)</sup>. Aslında yine kemik iliği nakli sonrası fertilitenin geriye döndüğü vakalar yanında<sup>(23,24)</sup> yüksek doz kemoterapi ve kemik iliği transplantasyonu sonrası gebelik oluşan vakalar kanser hastalarında<sup>(25)</sup>, Fanconi anemisinde<sup>(26)</sup> ve Hodgkin lenfomasında<sup>(24)</sup> bildirilmiştir. Üstelik erişkin gönüllülerden alınan kemik iliği örneklerinde germ hücre belirteçlerinin (MVH ve dazl) bulunması da kemik iliği orijinli kök hücrelerinden kaynaklanan oositlerin overde çoğaldığı fikrini desteklemektedir<sup>(12)</sup>.

### PGH → Oogonia → Oosit dönüşümü

Göç eden PGH' leri overe ulaşınca ismi oogonia olur. Oogonia PGH'e nazaran daha hızlı mitotik aktivite gösterir ve mayoza girmeden çeşitli defalar mitoz bölünme geçirirler. Aslında oogoniaların mitotik aktivitesi over rezervinin ne kadar olacağını belirler. Mayoz öncesi son mitoz turunda tam tamamlanmamış hücre bölünmesi (inkomplet sitokinez) ile oogonialar birbirlerine sitoplazmik köprüler ile bağlı kalarak sinsişyum oluştururlar. Bu sayade mayoza başlama sinyalinin diğer oogonialarada bu yolla iletildiği düşünölmektedir. Pre-mayotik DNA sentezinin başlaması ile oogonial dönem biter, oosit dönemi başlar. Oluşan oositlere primer oositler denir. Mayoza giriş 8 ile 13 haftalar arasında olup ilk foliköl oluşumunun izlendiği 16. haftadan çok öncedir. Straş geni bu aşamada çok önemlidir. Bu gen olmadığında

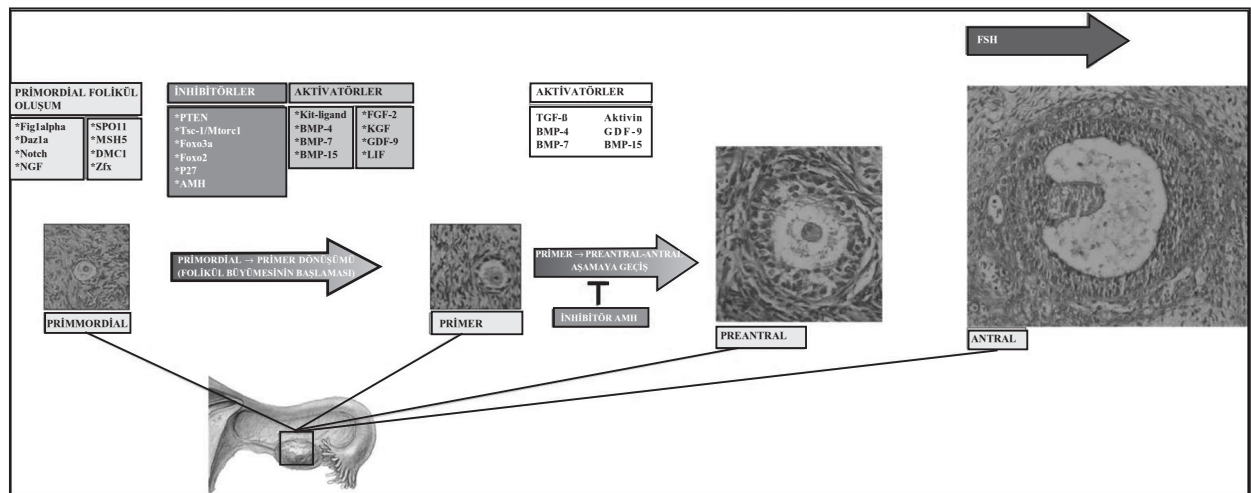
farede premayotik DNA replikasyonu, mayotik kromozom kondensasyonu, kohezini, sinaps ve rekombinasyon olmamaktadır<sup>(27)</sup>.

### Primordial foliköl oluşumu

İnsanda primordial foliköl gelişimi en erken 16 haftada başlar ve postnatal 6. ayda en geç biter. Over rezervini temsil eden primordial foliköller tek katlı yassı pre-granuloza hücreleri ile çevrili diploten ossitten (30-60 µm) oluşur (Figür 2). Primordial foliköl oluşumunda rol alan faktörler tabloda özetlenmiştir. Aslında oogoniada mitozun başlayıp granuloza hücreleri ile çevrilmesi yani foliköl oluşumu onu atreziden korumaktadır zira 28. haftadan sonra mayoza girmemiş oogonia overde artık izlenmemektedir. Yenidoğan overinde de oogonia mevcut değildir<sup>(28)</sup>. Ne varki over rezervini temsil eden primordial foliköller metabolik olarak inaktif fazdadırlar sayılarını dolayısıyla over rezervini tahmin etmemize yarayacak ne hormonal nede başka bir belirteçleri bulunmamaktadır.

### Primordial → Primer Foliköl Dönüşümü (Foliköl Büyümesinin Başlaması)

Primordial foliköller dormant fazdan büyümenin başlaması ile primer aşamaya geçerler. Primordial folikölden primer foliköl gelişimini neyin tetiklediği yıllarca bir muamma olarak kalmış iken son yıllarda yapılan özellikle transjenik hayvan çalışmaları bize



Figür 2: Foliköl gelişimi ve büyümesinde rol alan faktörler ve hormonlar.

8-13. haftalar arasında mayoza giriş ile beraber oogonialar oosite dönüşür. Bu ilk foliköl yapısının göröldüğü 16. haftadan önce olmaktadır. Oosit leptoten, zigoten ve pakiten aşamalarından geçerek diplotende arreste olmaktadır. Ovulasyon esnasında 1. mayoz bölünme tamamlanarak oosit haploid düzeye iner ancak 2cDNA içermeye devam eder. Ardından ikinci mayoz bölünmeye ilerleyip metafazda kalır ve fertilizasyon esnasında tamamlanarak 1n kromozoma indirgenir.

göstermektedirki, tek bir hormon veya sinyal yolağından ziyade over içinde farklı kompartmanlardan kaynaklanan (oosit, granuloza ve teka hücreleri,stroma) sinyallerin otokrin-parakrin etkileşimleri ile primordial foliküllerin primer basamağına ulaştıkları bilinmektedir. (29-32). Bu bulgular aslında niçin izole edilen primordial foliküllerin kültür ortamında yaşamadığını ancak doku kültürü içinde in situ olarak aktive olabildiklerini de açıklamaktadır(33). Üstelik primordial foliküllerin aktivasyonu için FSH ya gerek yoktur zira primordial foliküller FSH reseptörü barındırmazlar(32).

### **Primordial → Primer Folikül Dönüşümü İnhibitörleri**

Çok yakın zamanda yapılan genetik olarak modifiye edilmiş fare çalışmaları bize aslında primordial folikülleri dormant yani sessiz fazda tutan bazı inhibitör sinyaller olduğunu göstermiştir (Figür 2). Bu inhibitör moleküllerden biri veya birkaçının fonksiyonunu yitirmesi primordial foliküllerin aktive olmasına yol açmaktadır. Tsc-1 (tumor suppressor tuberous sclerosis complex 1), PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10), Foxo3a, p27, and Foxl2 inhibitör sinyallerden sorumludurlar ve bunların delesyonu prematür ve geri dönüşümsüz primordial folikül aktivasyonuna yol açmaktadır(34-37). Bunun sonucunda ise folikül havuzu erkenden tükenerek prematür over yetmezliği tablosu gelişmektedir. İnsana uyarlandığında ise şaşırtıcı olarak sadece Foxl2 mutasyonu prematür over yetmezliği ile ilişkilendirilmiştir (38). Bu genin mutasyonunda insanda blepharophimosis ptosis epcanthus inversus sendromu oluşmaktadır(39).

Foxo3 knock out fare total folikül kaybından dolayı infertildir; ancak Foxo3a geninde ne mutasyon ne de tek nükleotid polimorfizmi insanda prematür over yetmezliği ile ilişkili değildir(40).

PTEN 10. kromozomda lokalize bir tümör süpresör genidir ve insanda görülen pekçok tümörde delesyonu saptanmıştır. Germ hücre dizisinde PTEN mutasyonları Cowden hastalığı olarak bilinen otozomal dominant geçişli nadir bir sendroma yol açarlar. Deri, barsak, meme ve tiroid dokusunda çok sayıda hamartom gelişimi yanında meme, tiroid ve beyin tümörleri için artan risk bulunan bu hastalıkta buna rağmen prematür over yetmezliği bildirilmemiştir(41).

P27'nin insanda over yetmezliği ile ilgili bir veri bulunmamaktadır.

Anti-mullerian hormon (AMH, Mullerian inhibiting substance) transforming growth factor-beta (TGF-β) ailesinin bir üyesi olup büyümekte olan foliküllerin granuloza hücrelerinden salınmaktadır. AMH geni olmayan farede primordial foliküllerden primer folikül gelişimi hızlanmaktadır. Bu da AMH'nın primordial primer geçişini inhibe ettiği görüşünü desteklemektedir(42,43). Dimerik bir hormon olarak gelişmekte olan preantral ve antral foliküllerden(44) salınan AMH dişi fetusta ilk olarak 36. gebelik haftasında tespit edilebilmektedir(45). En yüksek değerine pubertede ulaşır ve menopoza sonrası kanda ölçümü yapılamaz(46,47). AMH son zamanlarda over rezervinin bir belirteci olarak ortaya çıkmıştır. Siklus içi ve sikludan siklusa düzeyleri az variabilite göstermesi özelliği onu over rezervinin iyi bir belirteci yapmaktadır. Antral folikül sayısı ve yardımcı üreme tekniklerinde elde edilen oosit sayısı ile de kan AMH düzeyi korelasyon göstermektedir(48,49).

### **Primordial → Primer Folikül Dönüşümü Aktivatörleri**

Primordial foliküllerin aktive olarak büyümeye başlamasında rol alan bazı aktivatör sinyaller mevcuttur (Figür 2). Primordial primer transformasyonu esnasında yassı granuloza hücreleri küboidal hale gelmekte oosit çapıda beraberinde artmaktadır(50). Primordial foliküllerin primer foliküllere aktive olmaları siklik sürekli bir hadisedir, fetal hayatta başlayıp menopoza kadar devam eder(8). Bu aktivasyonda transforming growth factor-beta (TGF-β) ailesinin bazı üyeleri rol almaktadır. Bone morphogenetic proteinler, BMP-4 ve BMP-7 (ovarian stroma ve theca hücrelerinden salınan)(51,52); büyüme farklılaşma faktörü-9 (growth differentiation factor-9) (oosit kaynaklı)(53-55) bu olayda rol oynamaktadır. GDF-9 geni olmayan fare infertil olup primer aşamadan ileri folikül gelişimi izlenmezken(53,54), GDF-9'un invitro primordial primer geçişinde etkileri tartışmalıdır. Bir çalışmada etkisi olduğu gösterilirken (55), bir diğerinde böyle bir etki izlenmemiştir(56).

TGF-β üyelerinin etkileri açısından türler arasında da farklar olduğu belirtilmelidir. Örneğin, oosit kaynaklı BMP-6 and BMP-15 (GDF-9B) genleri olmayan farede normal folikül gelişimi ve fertilitate izlenirken(57,58) BMP-15 mutasyonu insan ve koyunda prematür over yetmezliği ile karakterizedir(59,60).

Primordial folikülden primer gelişimini tetikleyen başka faktörlerde mevcuttur. Bunlardan biri Kit-ligand (KL), stem cell factor olarak da bilinir ve granuloza hücrelerinde bulunur, reseptörü c-kit oosit ve teka hücrelerinde eksprese edilir<sup>(61,62)</sup>. Bir diğeri leukemia inhibitory factor'dür (LIF granuloza hücrelerinde eksprese edilir)<sup>(62)</sup>. LIF ayrıca primordial germ hücrelerinin proliferasyonu, oosit büyümesi ve teka hücrelerinin çevre stroma dokusunda folikül çevresine toplanması gibi etkileride vardır<sup>(61-63)</sup>. Yine teka hücreleri ve stromadan salınan keratinosit büyüme faktörü (keratinocyte growth factor, diğeri ismi fibroblast growth factor-7, FGF-7) ve FGF-2 (basic fibroblast growth factor) de primordialden primer folikül gelişimini hızlandırmaktadır<sup>(61,64)</sup>. İlginçtir ki insulin hormonu da KL ve LIF ile aditif etkileşim göstererek bu geçişi hızlandırmaktadır<sup>(62,65)</sup>. Germ hücrelerinden salınan nobox (newborn ovary homeobox) ve forkhead transcription factor Foxo3'da aynı şekilde primordial primer geçişini uyarmaktadır<sup>(66,67)</sup>.

Anti-mullerian hormone (AMH) büyüyen foliküllerin granuloza hücrelerinde salınmakta olup primordial primer folikül geçişini inhibe etmektedir (Figür 2)<sup>(42,43)</sup>. İlerleyen yaş ve azalan over rezervi ile birlikte AMH düzeylerinin düşüşü daha fazla folikül büyümesini sağlamaya yöneliktir.

#### **Preantral ve Antral Aşamalara Folikül Büyümesi**

Granuloza hücrelerinin mitotik ekspansiyonu ile tek tabakalı primer foliküller çok tabakalı hale gelirler. Bu dönemde oosit çapında artma, granuloza hücrelerini teka tabakasından ayıracak olan bazal lamina ile zona pellusida ve teka hücrelerinin oluşumu gerçekleşir<sup>(68)</sup>. Bu büyüme fazında folikül çapı primer safhada 40-60 (m'dan preantral safhada 120-150 µm'a çıkar. Folikülün büyümeye devam etmesi ile 200 µm çapa ulaşan foliküller antral safhaya ulaşır. Asıl bu dönemin karakteristik özelliği granuloza hücre tabakaları arasında sıvı dolu boşlukların oluşup birleşerek antral boşluğu oluşturmalarıdır. Bu aşamaya kadarki folikül gelişimi insanda aylar sürer ve gonadotropinlerden bağımsız olarak gerçekleşir. Preantral foliküller FSH reseptörü barındırsalarda<sup>(32)</sup>, preantral folikül büyümesinde müsamahakar bir rolleri olduğu düşünülmektedir zira anosmi ve hipogonadotropik hipogonadizmlili hastalarda çok tabakalı folikül gelişimi nadiren de olsa izlenmektedir<sup>(69)</sup>. Diğeri taraftan

immün yetmezlikli hipogonadal fareye nakledilen over greftlerinin sürvisi FSH tarafından arttırılmakta ve antral safhaya kadar folikül gelişimi izlenmektedir<sup>(70)</sup>. İlginç olarak FSH in vitro preantral folikül büyümesine serumsuz ortamda böyle bir etkiye sahip değildir<sup>(71)</sup>. Kuvvetle muhtemeldir ki overde lokal olarak üretilen bazı faktörlerin FSH ile etkileşimleri sonucu bu farklılığı yaratmaktadır.

FSH 'un preantral folikül gelişimine olan tartışmalı etkilerine karşın bu dönemde folikül büyümesinin lokal olarak üretilen bazı faktörler vasıtası ile olduğu artık çok iyi bilinen bir gerçektir. Yine TGF-β ailesinin üyelerinden ve granuloza hücrelerinden salınan aktivinler, teka hücrelerinden salınan BMP-4 ve BMP-7, oosit kaynaklı GDF-9 ve BMP-15 preantral ve antral folikül gelişiminde rol oynamaktadır (Figür 2). İnsan ve kemirgen over doku kültürlerinde GDF-9 primer ve büyümekte olan sekonder folikül sayısı arttırmaktadır<sup>(56,72-74)</sup>. GDF-9 geni olmayan farede folikül büyümesinin primer aşamada kalması da folikül büyümesinde bu büyüme faktörünün önemini göstermektedir<sup>(53,75,76)</sup>. İlginç olarak GDF-9 geni olmayan farede teka hücrelerinin bazal laminaya toplanmaları da bozulmaktadır<sup>(54)</sup>.

Preantral-antral aşamaya folikül büyümesini indükleyen bir başka ajan BMP-15 dir. Oosit kaynaklı bu büyüme faktörü FSH'dan bağımsız olarak granuloza hücrelerinin proliferasyonundan sorumludur<sup>(77)</sup>. Yani gonadotropin bağımlılığının olmadığı erken folikül büyümesi döneminde folikül büyümesini BMP-15 sağlayabilmektedir. BMP-15 ilginç olarak FSH reseptör ekspresyonunu inhibe edebilmektedir<sup>(77)</sup> ve follistatin BMP-15'in bu etkilerini antagonize etmektedir. Follistatin ekspresyonu ise en fazla dominant folikülde mevcuttur dolayısıyla follistatin dominant folikül seçimi esnasında folikülde yeterince FSH reseptörünün bulunmasını sağlamaktadır<sup>(78)</sup>.

Teka hücreleri pekçok farklı açıdan folikül büyümesinde önemli rollere sahiptirler. Birincisi overde ana androjen kaynağı olarak granuloza hücrelerine östrojen sentezi için prekürsörler sağlarlar. İkincisi BMP-4 ve -7 folikül büyümesinin primer aşamadan itibaren büyütme<sup>(52,79)</sup>. Üçüncüsü, teka hücreleri salgıladıkları hepatocyte growth factor (HGF) ve keratinocyte-growth factor (KGF) granuloza hücreleri ile karşılıklı bir kommunikasyona geçmektedirler. HGF ve KGF granuloza hücrelerinde KL ekspresyonunu

arttırmaktadır. KL'de teka hücrelerinde HGF ve KGF ekspresyonunu artırarak potansiyalize edilmiş bir parakrin etki oluşmaktadır. KGF zaten primordiallyden primer folikül oluşumunda rol almaktadır<sup>(64)</sup>. Dördüncüsü preantral ve antral foliküllerin hızlı büyümeleri esnasında BMP-4 ve -7 FSH sinyal yolağını modifiye ederek aromatisasyon yani östrojen sentezini uyarırken progesterone sentezini baskılayarak luteinizasyon inhibitörü görevini yürütmektedirler. Ancak en azından rat modelinde FSH olmadan granuloza hücrelerinde steroid sentezini etkilememektedirler<sup>(80)</sup>.

Preantral and antral folikül büyümesini arttıran diğer büyüme faktörleri aktivin A (granuloza kaynaklı) ve TGF-beta (hem granuloza hem de teka hücrelerinden salınır) dır<sup>(29,81-84)</sup>. TGF-β' nın 3 izoformu vardır (TGF-β1, β2 and β3). TGF-β bioaktivitesi ilk olarak preantral folikülde izlenmekte folikül büyüdükçe kuvvetlice eksprese edilmektedir<sup>(85-87)</sup>. İnsanda etkileri hala tam netleşmemişse, en azından rat modelinde granuloza hücre proliferasyonu, progesteron üretimi ve FSH ile uyarılmış östrojen sentezinde rolleri vardır<sup>(88-90)</sup>.

Antimüllerian hormon insanda folikül büyümesinin mid-antral safhasına kadar granuloza hücrelerinden salınmaktadır<sup>(44)</sup>. Primordial primer geçişini inhibe etmesinin yanında preantral folikül gelişimi üzerinde de negatif bir etkiye sahiptir. Fare modelinde de FSH'ye bağlı geç preantral folikül büyümesini inhibe etmektedir<sup>(91)</sup>.

Granuloza hücrelerinde direk kan akımı yoktur. Bazal lamina kan-folikül bariyeri gibi çalışıp granuloza hücrelerini vaskülerize teka hücrelerinden ayırır. Granuloza hücreleri yaygın bir gap junction ağı ile kendileri arasında ve oositle sıkı bir ilişki içindedirler. Connexin adı verilen proteinlerin heksamerik konfigürasyonda dizilimleri sayesinde hücreler arasında metabolik değişim, sinyal iletimi ve moleküllerin transportasyonu işlevini görürler. Yine bu sayede zona içinden oosite uzanan bu gap junctionlar ile oosit plazma membranına uzanarak oosit ile de kommunikasyon halindedirler. Connexin 43 ve 37 proteini olmadığında folikül gelişimi sırası ile primer ve preantral safhada kalmaktadır<sup>(92-93)</sup>.

### **Dominant folikül seçimi**

Antral safhadaki foliküller erken mid ve geç antral

safhalardan geçerek büyümektedirler. Bu dönemde antral kavitede daha fazla büyüme, oosit çapında artma, granuloza ve teka hücrelerinde proliferasyon ve teka hücrelerinde vaskülarizasyonun artışı izlenmektedir. FSH bu dönemde folikül büyümesinin kritik bir belirleyicisi olmaktadır. Belli sayıda antral foliküllerden oluşan bir kohort siklik olarak FSH'nın etkisi ile daha ileri aşamaya büyümeye başlayarak dominant folikül seçimi için yarışa girerler. Önceleri insan overinde tek bir büyüme dalgası ile siklik olarak antral foliküllerin seçildiği düşünülürken artık birden çok büyüme dalgasının varlığı kabul edilmektedir<sup>(94)</sup>.

Seçilen kohort büyümeye devam ederken bu kohorttaki antral foliküllerin gonadotropinlere olan yanıtlarının ve steroidogenetik aktivitelerinin module edilmesi ve aynı zamanda olası bir prematür luteinizasyonun inhibe edilmesi kritik önem taşır. Bu sayede belli foliküller FSH 'a daha duyarlı kılınarak dominant folikül seçimi için zemin oluşturulmaktadır. Mevcut bilgiler tüm bu olayların otokrin-parakrin düzeyde lokal olarak üretilen bazı hormonlar ile gerçekleştirildiğini göstermektedir. Ekspresyon paternleri zaman mekansal özellik gösteren granuloza kaynaklı aktivin, BMP-6, oosit kaynaklı GDF-9 ve BMP-15 ve teka kaynaklı BMP-2, -3b, -4 ve -7 bu hormonlara örnektir.

Örneğin, aktivin A kültürde rat granuloza hücrelerinde FSH reseptör ekspresyonunu arttırmakta<sup>(95)</sup>; primer folikül büyümesinin baskılayıp, daha ileri aşamadaki foliküllerin büyümesini indüklemekte<sup>(82,96,97)</sup>; aromataz aktivitesinin düzenlenmesi, östrojen sentezi, LH reseptör ekspresyonu ve oosit maturasyonunda rol oynamaktadır<sup>(98)</sup>. Aktivin sinyal yolu reseptör (ActRIIB) mutasyonu ile bloke edildiğinde<sup>(99)</sup> veya aktivine irreversibl bağlanıp bioaktivitesinin nötralize eden follistatini aşırı eksprese eden transjenik farede<sup>(100)</sup> folikül büyümesi durmaktadır. Aktivinin tersine AMH siklik folikül rekürütmanını negatif olarak etkilemektedir. Bunu da antral ve preantral foliküllerin FSH'a olan yanıtlarını azaltarak yapmaktadır<sup>(42-44)</sup>.

Bu aşamada folikül gelişiminin bir diğer özelliği Aktivin A dominant bir ortamdan İnhibin A dominant bir ortama değişim olmasıdır. Küçük foliküller İnhibin A'ya oranla daha fazla Aktivin A üretirken, seçilen büyük antral foliküller daha fazla İnhibin A salarlar<sup>(101)</sup>. Aktivin-A küçük preantral foliküllerin teka



hücrelerinden LH bağımlı androjen sentezini zayıflattırırken, seçilen antral foliküllerden salınan İnhibin A bunu tam tersi etki göstererek teka hücrelerinden LH yardımı ile olan androjen salınımını artırır. Bu sayede granuloza hücrelerinde östrojene aromatize edilecek daha fazla androjen mevcut olacaktır. Büyümekte olan foliküllerin granuloza hücrelerinde eksprese olan aktivin A reseptörü oosit üzerinde bulunmaktadır. Bununla uyumlu olarak aktivin A gelişmekte olan foliküllerdeki oosit maturasyonundan da sorumlu olmaktadır<sup>(102)</sup>. İn vitro oosit maturasyonunu arttırdığı insan ve hayvan modellerinde gösterilmiştir<sup>(103,104)</sup>.

TGF-β'nın etkileri aktivin A'ya benzerdir. Bunlar arasında granuloza hücrelerinde FSH reseptör ekspresyonunun, aromataz aktivitesinin ve inhibin yapımının arttırılması, teka hücrelerinde progesteron yapımı, LH reseptör ekspresyonu ve androjen yapımının baskılanması vardır<sup>(68)</sup>.

Büyümekte olan bir kohort mevcudiyetinde granuloza hücrelerinden salınan BMP-6 ve teka kaynaklı BMP-4 ve -7 küçük preantral foliküllerin teka hücrelerinden androjen salınımını sınırlandırarak östrojen oluşumu ve bu foliküllerin büyümelerinin yavaşlatır.

### Luteinizasyonun inhibisyonu

Granuloza hücre proliferasyonu ve folikül büyümesi esasında prematür luteinizasyonun önlenmesi önemlidir. Bu bağlamda oosit kaynaklı faktörler BMP-6,-15 ve GDF-9 gonadotropin ile olan progesteron sentezini baskılayarak prematür luteinizasyonu inhibe eder<sup>(78)</sup>. BMP-15 FSH reseptörünü baskılayarak çalışırken<sup>(77,105)</sup>, BMP-6 FSH reseptörünün adenilat siklaz aktivitesini inhibe eder<sup>(106)</sup>. İlginç olarak BMP-6 RNA'sı dominant folikül seçimi esnasında kaybolmaktadır, zira dominant folikül seçimi FSH'nın etkileri ile olmaktadır. Ne BMP-15, ne de BMP-6 FSH ile olan P450 aromataz aktivitesinin arttırılması ve estradiol yapımına olumsuz etkiler göstermezler<sup>(105)</sup>. BMP-15 ve GDF-9 folikül survivali üzerinde olumlu etkilere de sahiptir<sup>(105)</sup>. BMP-4 ve -7 bazal ve FSH ile indüklenmiş estradiol sentezi, hücre proliferasyonu, androjen ve progesteron sentezinin baskılanması gibi rollere sahiptirler<sup>(68)</sup>.

Özet olarak preantral ve antral folikül büyümesi FSH ve LH reseptör ekspresyonunu ve FSH ile indüklenen aromataz aktivitesinin arttırılması ile karakterizedir. Özellikle granuloza kaynaklı aktivin-A, TGF-β ve BMP-6, teka kaynaklı BMP-4 ve -7 daha büyük preantral ve antral foliküllerden salınarak küçük

foliküller için androjen desteğini kısıp büyümelerini engellerler. Folikül büyüdükçe daha fazla inhibin A ve follistatin salınarak aktivin dominant ortamdan inhibin dominant ortama bir geçiş olmaktadır. Artan inhibin ile FSH düzeyi düşmekte ve LH ile indüklenen androjen sentezi artarak preovulatar dönemde ihtiyaç duyulan estradiol yüksekliği için substrat hazırlanacaktır. Follistatinde aynı zamanda aktivin A'yı süprese edecektir. Bu sayede yaratılan ortamla erken folikül büyümesi aşamasında aktivin A, TGF-β ve GDF-9 gibi faktörlerin etkisi ile daha fazla FSH ve LH reseptör eksprese eden foliküller ile daha fazla aromataz aktivitesi taşıyan foliküller ileri büyüme aşamasında daha az substratı daha etkili kullanabilir hale gelerek atreziden kaçıp dominant folikül olarak seçilebilecektir. Büyümekte olan kohortun gonadotropinlere olan yanıtlarının modüle edilmesi ve luteinizasyonun inhibisyonunda bu dönemde eşlik eden önemli olaylardır.

Sonuç olarak antral evreye kadarki folikül büyümesi çok büyük oranda dışarıdan monitorize edemediğimiz lokal olarak üretilen büyüme faktörlerinin parakrin-otokrin etkileşimleri neticesinde olmaktadır. Tek bir hormon veya sinyal yolağı dışında over içinde oosit, granuloza ve teka hücreleri ile stroma gibi farklı kompartmanlardan zaman-mekansal bir şekilde salınan bu faktörlerin kompleks etkileşimleri ile folikül büyümesi ve ovulasyon gerçekleşmektedir. Postnatal oogenezi ile ilgili çarpıcı çalışmalar gelmeye devam ettikçe prematür over yetmezliği ve kötü yanıtı düşük over rezervli hastaların tedavisine belki bir adım daha yaklaşmış olacağız. Yakın gelecekte germ kök hücreleri tıbbın diğer kollarında olduğu gibi üreme tıbbında hizmetinde olmaya aday gibi görünmektedir.

## FOLİKÜL BÜYÜMESİNİN ENDOKRİN KONTROLÜ

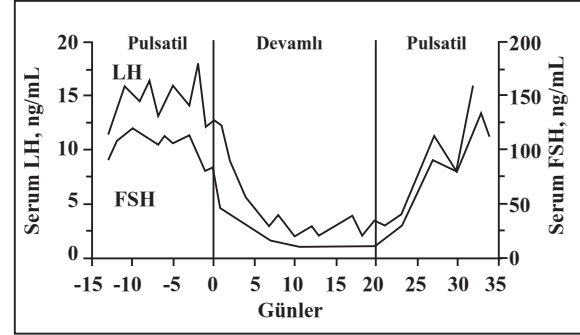
### Gonadotropin-releasing hormon (GnRH)

GnRH dekaeptid bir hormon olup 8. kromozomda kodlanmaktadır. G-protein coupled receptor ailesine mensup (GPR) reseptörleri ise 4. kromozomda bulunurlar. Luteinizasyon hormonu releasing hormone (LHRH) olarak da bilinen GnRH'yı salgılayan nöronlar embriyonel dönemde olfaktör plakod üzerinde diferansiye olduktan sonra önbeyinde kribriform plakayı çaprazlayarak medial bazal hipotalamusa inerler. Yaklaşık 7000 GnRH salan nöron mevcuttur ve diğer hormonları

salan nöronların aksine medial bazal hipotalamusda toplu halde değil dağınık olarak bulunurlar<sup>(107)</sup>. GnRH hormonunun 3 farklı izoformu olduğu artık bilinmektedir. GnRH-I, -II ve III. GnRH-II' nin kendisi 20. kromozomda reseptörü 1. kromozom üzerinde bulunmaktadır. GnRH-1 ' in aksine GnRH-II nin FSH ve LH salınımını uyarma etkinliği çok daha azdır (GnRH-I' in %2 si kadar) ve beyin dışındaki dokularda daha fazla miktarda bulunmaktadır. Bu sonuçlar GnRH-II'nin asıl işlevinin gonadotropin salınımını sağlamak olmadığı görüşünü desteklemektedir. GnRH-III izoformu ise hipotalamik dağılım açısından GnRH-I'e benzemektedir. Ancak insanda işlevselliği konusunda bilgiler mevcut değildir<sup>(108)</sup>.

İnsanda GnRH salınımını düzenleyen mekanizmalar son derece karmaşık olup yeni yeni gün ışığına çıkmaktadır. GnRH salınımındaki anormallikler FSH ve LH hormonunun miktarları yanında koordine salınımlarını da olumsuz etkileyerek over fonksiyonları ve ovulasyonu bozmaktadır. GnRH salan nöronların gelişiminde ve migrasyonunda adhezyon molekülleri (anosmin-1; KAL1 geni tarafından kodlanmaktadır), fibroblast büyüme faktörü (FGF-8, fibroblast growth factor 8) ve reseptörü (FGFR1), prokineticin 2 (PROK2) ve reseptörü (PROKR2) gibi çok farklı hormon ve reseptör rol almaktadır. Bunlardan olfaktör yani koku alma sisteminde de eşzamanlı bozulmanın olduğu Kalmann sendromunda koku duyusu yokluğu (anosmi) ve beraberinde GnRH salınımında da bozulma olduğu için FSH ve LH hormonlarının düzeyi son derece düşük kalmaktadır. Bunun sonucunda hastalarda puberte gelişimi olmamaktadır (hipogonadotropik hipogonadizm) <sup>(109-111)</sup>. Normal gonadotropin salınımı için GnRH hormonunun pulsatil bir şekilde salgılanması zorunludur. Belli bir pulsatilitede salınan GnRH FSH ve LH salınımını uyarır, FSH ve LH ise gonadlarda seks steroidleri olan östrojen, progesteron, testosteron ve androstenedion ile inhibin, aktivin ve insulin-like growth factor-I (IGF-I) gibi diğer faktörlerin salınımına sebep olurlar. Aslında tüm üreme sisteminin fonksiyonel olarak kalması için bu pulsatilite kritik bir öneme sahiptir. GnRH hormonu aralıklı olarak salındığında FSH ve LH salgısını uyarıcı etki gösterirken sürekli bir biçimde salındığında tam tersine FSH ve LH salgısı durmaktadır. Devamli verilen GnRH ile önce agonistik etki ile FSH ve LH artar iken daha sonra hipofiz desensitizasyona bağlı kan düzeyleri azalmaktadır <sup>(112)</sup>.(Figür 3). Bu özellikleri GnRH agonistleri

gonadotropinler ve dolayısıyla seks steroidlerinin baskılanması gereken pekçok durumda kullanılmaktadır. Yardımcı üreme tekniklerinde kontrollü over stimülasyonu ile erken puberte (puberte prekoks), meme ve prostat kanseri tedavileri en sık uygulama alanlarıdır.



**Figür 3:** GnRH salınım paterninin FSH ve LH salınımına etkisi. Her 6 dakikada bir pulsatil verilen GnRH FSH ve LH düzeylerini korurken, devamlı verildiğinde hem FSH hem de LH suprese olmaktadır.

GnRH salan nöronların intrinsek bir pulsatilitesi vardır. Pekçok eksternal faktör ve nöromodülatör ajan GnRH salınımının frekans (sıklık) ve amplitüdünü etkileyerek (şiddet) GnRH salgısını modifiye ve kontrol edebilmektedir. Yakın zamanda Kiss1 genince kodlanan kisspeptin hormonuna ait reseptörün (GPR54) GnRH salan nöronlarda bulunduğu ve GnRH salgısının potent bir uyarıcısı olduğu bulunmuştur. Bu sayede GnRH salınımı ile birlikte puberte başlamaktadır. Kisspeptin-GPR54 sistemi östrojene bağlı olarak ovulasyon için gerekli olan LH artışından da sorumludur. GnRH uyarısının amplitüd ve frekansı, FSH ile LH yapım ve salınımını kontrol etmektedir. Hem LH hem de FSH hormonu GnRH ile olan akut uyarıya yanıt olarak salgılsa da, GnRH'nun FSH salgısındaki rolü LHya göre daha azdır. GnRH hormonu antagonist ile inhibe edildiğinde LH sekresyonu %90 azalırken FSH'da bu inhibisyon %40-60 arasında kalmaktadır. Yine GnRH dozu arttıkça LH salgısı artarken FSH çok etkilenmemektedir. Farklı frekansta salınan GnRH, FSH ve LH salınması için farklı uyarılara yol açmaktadır. Örneğin artan frekansta GnRH uyarısı LH salınımını arttırırken, yavaş frekansta salındığında FSH'yı arttırıcı etki göstermektedir<sup>(107)</sup>.

### Gonadotropin Hormonları (FSH ve LH)

FSH ve LH anterior hipofizdeki hücrelerin %7-15'ni oluşturan gonadotrop ismi verilen hücrelerde

sentezlenir. İlginç olarak bu hücrelerin yaklaşık %70'i için immunhistokimyasal olarak hem FSH hemde LH için pozitif boyanmaktadır. Gonadotropılardan FSH mı yoksa LH mı salınacağına GnRH'nun fizyolojik pulsatilitesinin frekans ve amplitüdündeki değişimler belirler. FSH ve LH glikoprotein yapıda hormonlardır. Kovalent olmayan bağlarla birbirine bağlanmış alfa ( $\alpha$ ) ve beta ( $\beta$ ) alt ünitelerinden oluşan heterodimer yapıları vardır. Alfa alt ünitesi, FSH, LH, TSH (thyroid stimulating hormone) ve hCG (human chorionic gonadotropin) hormonlarıyla aynıdır. Farklılık beta alt ünitelerinden kaynaklanmaktadır. Diğer glikoprotein yapıdaki hormonlarda olduğu gibi post-translasyonel olarak glikolizasyon patterni menstrual siklusun günlerine göre değişim göstermektedir. Sülfatlı gonadotropinlerin özellikle de LH'nin yarı ömrü sialik asid içeren formlarından daha kısadır. Çünkü terminal N-asetil galaktozamin sülfatı tanıyan bir hepatik reseptör dolaşımdan N-asetil galaktozamin sülfat taşıyan hormonu hızlı biçimde uzaklaştırmaktadır. Farklı karbonhidrat yapısı ve yükleri FSH ve LH'nin farklı izoformlarının bulunmasına imkan verir. Bazik FSH ve LH in vitro şartlarda daha potent etki gösterirler ancak yarı ömürleri kısadır. FSH molekülü üzerinde sialik asid rezidüleri arttıkça yarı ömrü artar<sup>(107)</sup>.

FSH ve LH reseptörleri G-protein coupled reseptör (GPCR) ailesinin rhodopsin/ $\beta$ 2 adrenerjik benzeri altgrubuna üyedirler. Her iki hormonunda reseptörleri 2. kromozomun kısa kolu üzerindeki tek bir gen tarafından kodlanmaktadır. Hem transkripsiyonel hem de post-transkripsiyonel olarak FSH ve LH reseptörleri regüle edilmektedir. Granuloza hücrelerinde folikül büyüdükçe LH reseptör mRNA'sındaki artış transkripsiyonel regülasyonun tipik bir örneğidir. Preovulatuvar LH artışı esnasında LH reseptör mRNA'sının regüle edilmesi de post-transkripsiyonel regülasyona örnektir. FSH reseptörü sadece granuloza hücrelerinde eksprese edililirken, LH reseptörü, teka ve granuloza hücreleri yanında over stromasındaki intersiyel hücrelerde de bulunmaktadır. FSH ve LH reseptörlerine bağlandıktan sonra hücre içinde çok farklı sinyal yollarını aktive etmektedir. GPCR  $G\alpha$ s/adenyl cyclase/cAMP/protein kinase A sinyal yolağı hormon ligand-reseptör çiftleşmesini takiben birincil olarak aktive olmaktadır. Bunun aktivasyonu ile diğer sinyal yolları uyarılmaktadır. ERK (extracellular signal regulated kinase), Src, epidermal growth factor (EGF) benzeri büyüme faktörleri ve ERB

reseptörü bunlara örnektir. Çoğu hücre içi cAMP artışı sonrası izlenen yolların sayısı her geçen gün artmaktadır<sup>(107)</sup>.

### Gonadotropin salgısının regülasyonu

Gonadotropin hormonların etkinlikleri hem endokrin, hemde otokrin-parakrin düzeylerde regüle edilmektedir. Endokrin düzeyde FSH hormonu overde büyümekte olan foliküllerin granuloza hücrelerinden salınan aktivin, inhibin ve follistatin isimli hormonlar tarafından hipofiz düzeyde gonadotropılara etkiyerek olmaktadır. İnhibin A ve B gonadotropılardan FSH salınmasını inhibe ederken (negatif feedback), aktivin hormonu FSH- $\beta$  alt ünitesinin transkripsiyonunu artırarak, ve GnRH ile de uyum halinde çalışarak FSH salgısı üzerinde uyarıcı etki gösterir. İnhibin, aktivin tip-2 reseptörü sekestre ederek aktivini antagonize eder. Follistatin ise aktivini nötralize ederek inaktive etmektedir. Her üç hormon da folikülojen bölümünde daha ayrıntılı işlenmiştir. Östrojen hormonu da negatif feedback yolu ile hem FSH hemde LH salınımını inhibe etmektedir. Aromataz enzimi inhibe edildiğinde kanda östrojen hormonunun azalması ile birlikte FSH ve LH düzeyinde artış, postmenopozal ve ooforektomize bayanlarda ovaryen östrojen yapımının sona ermesi sonucu FSH ve LH'daki artışlar bunu en tipik örnekleridir. Aslında östrojene bağlı gonadotropin salgısındaki negatif feedback mekanizmasının altında yatan ve asıl rolü oynayan hormonun GnRH olduğuna dair kuvvetli veriler mevcuttur. Overlerin çıkartılmasından sonra GnRH düzeyinde gözlenen artış ve östrojen replasmanı ile GnRH düzeyinin foliküler faza inmesi ve GnRH salınan medial bazal hipotalamusta metabolik aktivitenin azalması bunu desteklemektedir. Kisspeptin, neurokinin B, substance P, dynorphin ve östrojen reseptör alfa ( $\alpha$ ) bu feedback mekanizmasında rol almaktadır. Tüm bu bulgular östrojenin hipotalamik düzeyde negatif feedback etkisini desteklerken hipofiz düzeyinde benzer bir mekanizmanın varlığı hala tartışmalıdır. Hipofizdeki gonadotropılarda östrojen reseptör alfa ve beta bulunmaktadır. İnvitro şartlarda östrojen kültürdeki hipofiz hücrelerde GnRH'ye olan LH yanıtını azaltmakta, hipotalamusu lezyone edilmiş ve pulsatil GnRH alan maymunlarda östrojen verilmesi LH salınımını azaltmıştır. Ancak GnRH eksikliği olan bayanlarda östrojen verilmesi pulsatil GnRH'ye yanıt olarak LH değil tersine FSH düzeyinde artışa yol açmış, buna karşın aynı özellikteki hastalarda östrojen reseptör

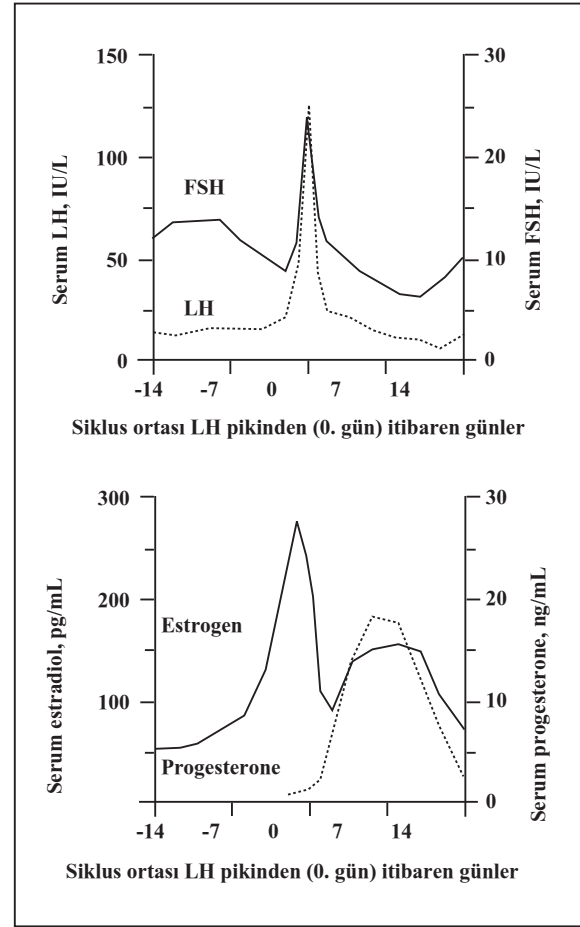
alfa bloke edildiğinde FSH ve LH düzeyi değişmemiştir. GnRH pulsatilitesinin amplitüdünü etkileyerek GnRH salınımını azaltan östrojenin tersine progesteron hormonu GnRH pulsatilitesinin frekansı üzerinde kuvvetli bir etkiye sahiptir. İlginç olarak östrojen hormonu bir ön hazırlık olarak (priming) hipotalamusta progesteron reseptörlerini up-regüle etmektedir. Progesteronun GnRH üzerindeki feedback etkisinde  $\beta$ -endorphin hormonunun da rolü vardır.

Östrojen hormonu bir taraftan gonadotropin salınımı üzerinde negatif feedback etki gösterirken, diğer taraftan da ovulasyondan hemen önce pozitif bir feedback etki ile ani bir LH artışına sebep olur. Nasıl olup da östrojen hormonunun hem pozitif hemde negatif feedback etki gösterdiği ve bu etkilerin hipotalamus mu yoksa hipofiz üzerinden mi olduğu açık değildir. Ancak mevcut bilgilerimiz göstermektedir ki östrojen hormonu hipofiz bezinde GnRH'ye olan duyarlılığı ve GnRH reseptör sayısını arttırmaktadır. Takip eden bölümde menstrual siklusa hormonal değişimler ayrıntılı olarak incelenmiştir.

#### Erken foliküler faz

Menstruasyondan sonraki ilk günler yani erken foliküler faz overlerin hormonal olarak en az aktif olduğu dönemdir. Buna bağlı olarak serum estradiol ve progesteron düzeyleri düşüktür. Aslında bir önceki siklusun geç luteal fazında lutealizise bağlı olarak kan progesteron düzeyinde azalma, yine östrojen ve luteal faz inhibin A düzeylerindeki düşüş ile negatif feedback etkinin azalması, GnRH pulse frekansında artışa yol açar. Bunun sonucunda FSH salınımında geç luteal fazdan itibaren bir artış izlenir (yaklaşık %30'luk artış) (Figür 4 ve 5). FSH'daki bu artış antral folikül kohortundan dominant folikülün seçimi için gereklidir (113,114). Erken foliküler fazda büyümek için seçilen antral foliküllerden salınan inhibin B serum düzeyi maksimuma ulaşır<sup>(115)</sup>(Figür 5). İnhibin B düzeyindeki bu artış siklusun bu döneminde FSH'daki artışı baskılamaya yöneliktir. Bu dönemde LH frekansında da hızlı bir artış izlenir. Geç luteal fazda her 4 saatte bir olan pulse, erken foliküler fazda her 90 dakikada bir çıkar<sup>(116)</sup>. İlginç olarak erken foliküler faza has bir fenomen de uyku esnasında LH pulsatilitesinin azalması veya yavaşlamasıdır. Siklusun başka hiçbir döneminde izlenmeyen bu olayın nasıl ve neden gerçekleştiği bilinmemektedir. Erken foliküler fazda overler sessizdirler ve ultrasonografik olarak 3-8 mm

arası küçük antral foliküller izlenebilir. Yine bu dönemde bir önceki siklusa kalma gerileyen bir korpus luteum da izlenebilir.



**Figür 4:** Menstrual siklusa hormonal değişimler.

Hipofiz bezi (FSH ve LH; sol panel) ve overden (östrojen ve progesteron; sağ panel) salınan hormonların serum düzeylerindeki siklus içindeki değişimleri. Foliküler faz menstruasyon kanamasının ilk gününden LH pikine kadar olan dönem; luteal faz LH pikinden (gün 0) bir sonraki kanamaya kadarki dönem. Serum östradiol düzeyini pmol/L'ye çevirmek için 3.67, progesteronu nmol/L ye çevirmek için 3.18 ile çarpınız.

#### Orta foliküler faz

Erken foliküler fazda yükselmeye başlayan FSH kohortu oluşturan antral foliküllerin büyümesi ve östradiol salınımına yol açar. Büyüyen antral foliküllerin granuloza hücre tabakaları arttıkça ilk olarak FSH ile uyarılan aromataz aktivitesi sebebiyle estradiol yapımı, ardından da inhibin B yapımı artar. Kanda düzeyi artmaya başlayan östradiol negatif feedback ile sadece FSH ve LH salınımını değil aynı zamanda LH pulse amplitüdünü de baskılar. GnRH pulsatilitesi hafif artar ve LH pulse frekansını saatte bir çıkarır (erken foliküler fazda 90 dakikada bir iken). GnRH

pulsatilitesindeki hareketlenme gerileyen korpus luteumdan salınan progesteron hormonunun azalması ile negatif feedback etkinin ortadan kalkmasıyla. Ultrasonografik olarak 9-10 mm antral foliküller izlenmeye başlar, Artan östradiol endometrial proliferasyona yol açarak endometriumun kalınlığını artırır ve üçlü tabaka görüntüsü oluşur.

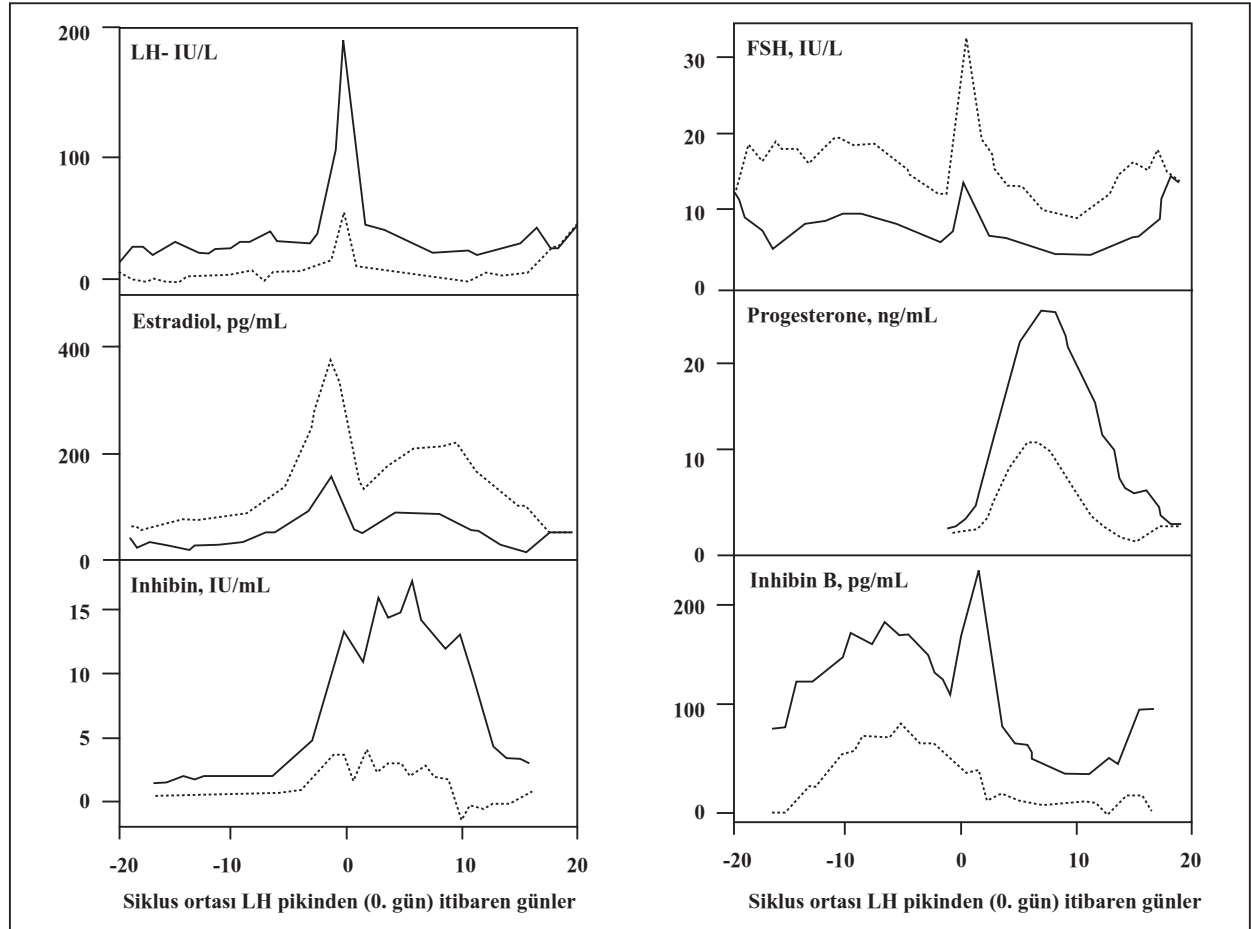
### Geç foliküler faz

Büyümekte olan foliküllerden salınan östradiol ve inhibin B'nin kan düzeyleri artar, FSH ve LH salınımını süprese eder (Figür 4 ve 5). Dominant folikül seçildikten sonra FSH overde LH reseptör ekspresyonunu ve insulin-like growth factor-I (IGF-I) gibi bazı büyüme hormonlarının yapımını arttırmaktadır. Dominant folikülün seçimi diğer antral foliküllerin gerileyerek atreziye uğramasına sebep olur. Günde yaklaşık 2 mm büyüyen dominant folikül ovulasyondan önce 20-26 mm boyutuna kadar ulaşır. Antral foliküllerin büyümesi ve dominant folikülün seçimini mekanizmaları folikülojeniz kısmında ayrıntılı verilmiştir. Siklusun bu döneminde artan östrojen

hormonunun etkisi ile endometrium daha kalınlaşırken, servikal mukus miktarı artar ve daha geçirgen hale gelir. Spinnbarkeit testi olarak bilinen test yapıldığında yani baş ve işaret parmakları arasına alınıp parmaklar açıldığında mukusun uzadığı izlenir. Spermin uterusu taşınmasına yardımcı olan MUC5B isimli bir mucus proteininin bu dönemde yapımı artar<sup>(117)</sup>.

### Luteal faz

Serum östradiol düzeyi yükselmeye devam ederek ovulasyondan bir gün önce pik yapar. Ardından LH düzeyinde ani bir artış olur ve serum LH düzeyi 10 kat artar. Bu artışın sebebi siklusun diğer dönemlerinde östrojen hormonunun LH salınımına olan negatif feedback etkisinin aniden pozitif dönüşüdür. LH'daki bu artışa az miktarda FSH artışı da eşlik etmektedir (Figür 5). LH pikinden sorumlu başka bilinmeyen faktörler de mevcut olmalıdır, zira siklusun ortasına yakın dönemde östrojen ve progesteron hormonları verilerek aynı etki elde edilememektedir. Negatifden pozitif feedback'e nasıl dönüldüğü hala anlaşılamamıştır. Anterior hipofiz bezde GnRH reseptör artışı olasıdır,



Figür 5: Menstrual siklusta hormonal düzeyleri.

Gonadotropinler, seks steroidleri ve inhibin düzeyindeki değişimler: genç (20-34 yaş arası mavi) ve yaşlı bayanlar (35-46 yaş arası kırmızı).

zira hipofize olan GnRH inputu değişmemektedir<sup>(118)</sup>. LH pikinden yaklaşık 36 saat sonra ovulasyon gerçekleşmektedir. Oosit folikülden salınmadan önce granuloza hücreleri de LH'nın etkisi ile luteinize olup progesteron hormonu salmaya başlar. Artan progesteron, pulse jeneratörünü etkileyerek LH pulsatilitesinin sıklığını (frekansını) azaltır.

Ovulasyon sonrası ultrasonografik olarak endometriumun üçlü tabaka görüntüsü kaybolur ve tek bir tabaka şeklinde homojen parlak görünür. Aslından ovulasyonla beraber artan progesteron düzeyi endometriumda mitozu durdurur ve gland yapılarının organize olmasını sağlar.

### **Orta ve geç luteal faz**

Bu dönemde progesteron salınımı daha artar ve LH pulsatilitesinde saatte bire kadar düşen yavaşlama izlenir. Bu yavaş LH pulsatilitesini takip eden progesteron pulsaları olur. Bunun sonucu olarak serum progesteron düzeyleri belirgin salınım gösterir. Bu dönemin bir başka özelliği korpus luteumdan üretilen inhibin A düzeyi pik yapar. İnhibin B luteal fazda yoktur. Yine bu dönemde serum leptin düzeyi de en yüksek miktarına ulaşır<sup>(119)</sup>. Şayet fertilizasyon olmaz ise korpus luteumdan progesteron ve östrojen salınımı tedrici olarak azalır. Eğer fertilize olursa embriyo koryonik gonadotropin yapmaya başlar, korpus luteumun hayatta kalması ve progesteron salması görevini devam ettirir.

## **MENSTRUAL SIKLUSTA ENDOMETRİAL DEĞİŞİMLER**

Giriş kısmında da belirtildiği gibi menstrual siklus, hipotalamus, hipofiz ve overde farklı kompartmanlardan kaynaklanan hormonlar ve bunların başlattığı hücre içindeki farklı sinyal yollarının neticesinde ortaya çıkan uyarıcı ve inhibe edici etkilerin son derece sıkı koordineli bir şekilde çalışması sonucu tek bir folikülün seçilerek büyümesi ve ovulasyonu ile sonuçlanan aylık döngü gösteren bir endokrin aktivitedir. Bu aktivite sürecinde başlıca overden kaynaklanan steroid hormonların etkisi ile endometriyumda da değişimler olması sağlanarak olası bir implantasyon için her ay hazırlık yapılmaktadır. Endometrium 2 tabakadan oluşur ve seks steroidlerine yanıt verirler. Üst fonksiyonel tabaka stratum compacta ve spongiosum

menstruasyonda yıkılır. Altta yatan bazal tabaka ise (stratum basale) menstruasyonda kaybolan üst tabakanın yeniden rejenerasyonunda sorumludur. Pratik olarak östrojen hormonu ilerleyen bölümlerde daha ayrıntılı anlatıldığı gibi foliküler fazda proliferatif etkilerden sorumlu iken, progesteron hormonu ise luteal yani sekretuar fazda diferansiyasyondan sorumludur.

Pratik olarak menstruasyon yani adet ilk günü menstrual siklusun 1. günü olarak kabul edilir. Overdeki değişimlere göre siklus 2 faza ayrılmaktadır. Folliküler ve luteal olarak. Adetin 1. gününden itibaren LH piki ve ovulasyona kadar geçen ilk yarı foliküler faz, bunu takip eden ikinci yarı ise luteal faz olarak bilinir. Bir siklus 28 gün olarak kabul edilirse ilk 14 gün foliküler, ikinci 14 gün luteal fazdır. Endometriumdaki değişimler göz önüne alındığında ilk 14 günlük süre proliferatif, ikinci 14 gün sekretuar olarak adlandırılır.

Menstrual siklusun süresi reproduktif dönemin her iki ucunda yani menarş sonrası ve menopoz öncesi belirgin değişkenlik gösterir. Siklus 25-30 yaşları arasında en uzundur over rezervi azaldıkça foliküler fazın kısalmasına başlaması ile siklus aralıklarında kısalmır. Ancak luteal faz nisbeten sabit kalır.

### **Proliferatif faz**

Siklusun 1. günü menstruasyonun başlaması ile endometriumun 2/3 üst tabakası (hormonlara yanıt veren stratum fonksiyonalis) dökülmeye başlar. Büyümekte olan antral foliküllerin granuloza hücrelerinden salınan östrojen hormonunun etkisi ile bazal 1/3 lik tabaka (stratum bazalis) rejenerasyon gösterir. Bu döneme proliferatif faz denir, hem glandular hemde stromal tabakada hızlı proliferasyon ile karakterizedir. Proliferatif fazda endometrial glandlar düzgün doğrusal yapıda, tübüler yapılar ise düzenli uzun psödostratifiye (yalancı çok katlı) kolumnar epitel ile döşelidir. Mitotik figürler çok sayıdadır ancak mukus sekresyonu veya vakuolizasyon izlenmez. Endometriumun stromal komponenti bu dönemde sıkıca birbirine bağlı spindile (iğsi) hücrelerden oluşur. Dar sitoplazmalı bu hücrelerin mitotik aktiviteleri yüksektir (Figür 6).

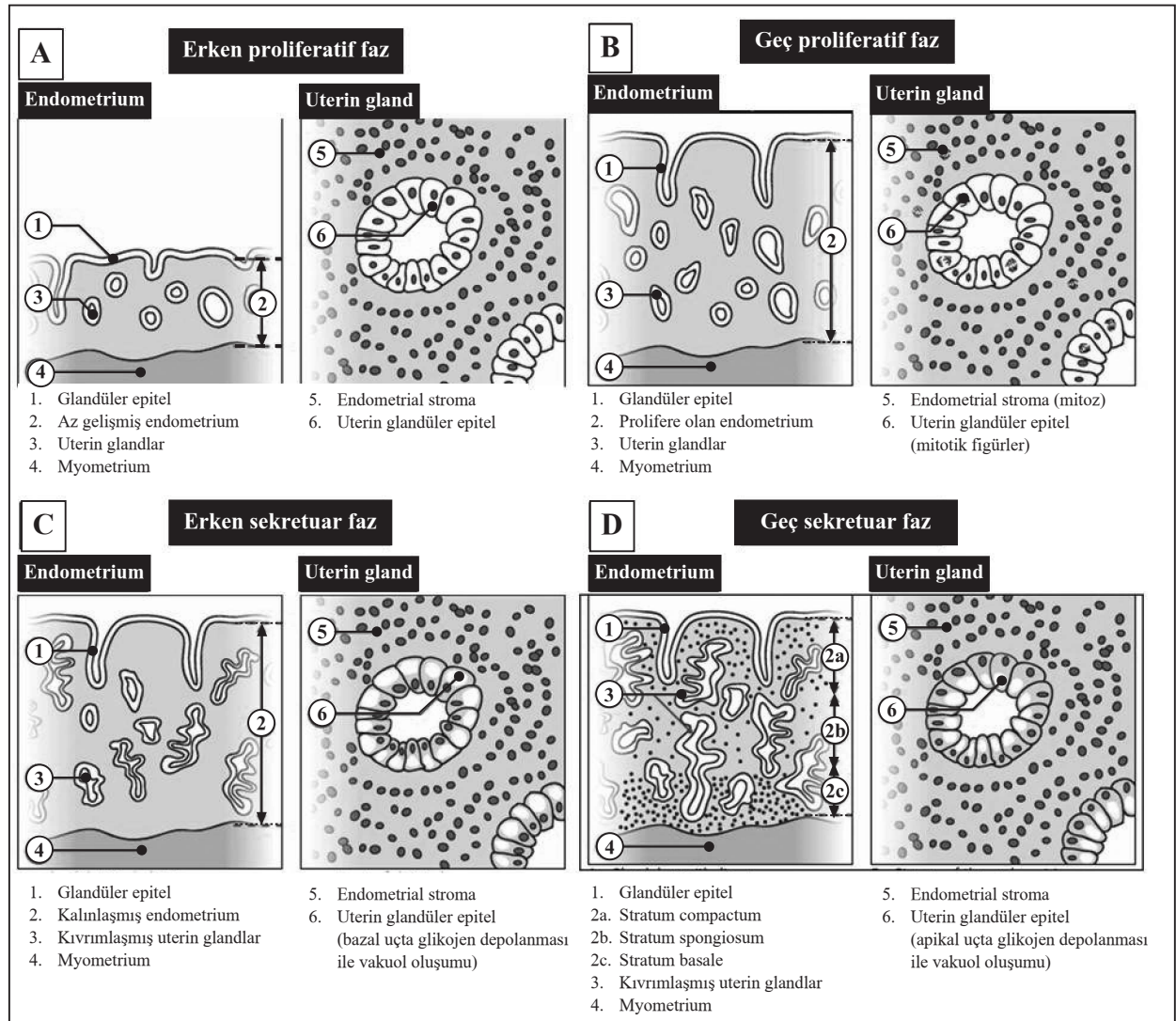
### **Sekretuar faz**

Overde foliküler faz ilerleyip seçilen dominant folikül ovulasyona yaklaştıkça endometriumun büyümesinde yavaşlar ve ovulasyondan sonraki günlerde mitotik aktivitesi durur. Bu dönemde artık östrojene

ek olarak oluşan corpus luteumdan da progesteron yapımı ve salınımı başlamıştır. Postovuluar endometriyumda ilk belirgin değişim glandüler epitel nükleuslarının altında sekretuar vakuollerin oluşmaya başlamasıdır. Sekretuar fazda endometriyumda seks steroidlerini reseptör ekspresyon paternleri erken sekretuar fazın hem östrojen hem de progesteron tarafından regüle edildiğini; mid-sekretuar fazın ise sadece progesteron hormonu tarafından yönetildiğini göstermektedir. Zira mid-sekretuar fazda östrojen reseptör alfa ( $\alpha$ ) down-regüle olmaktadır<sup>(120)</sup>. Geç sekretuar faz ise progesteronun hakimiyetini yitirmesi ile olan ve menstruasyonla sonuçlanan bir evredir. Mikro-array çalışmaları geç proliferatif dönemden erken ve mid-sekretuar faza dönüşümde pekçok genin ekspresyonunun değiştiğini göstermektedir<sup>(121,122)</sup>. İlginç olarak endometrioziste de bu değişimin yapılamadığı gösterilmiştir<sup>(123)</sup>(Figür 6).

Siklusun 3. haftasında bu sekretuar aktivite en

belirgin hale gelir ve bazal vakuoller progresif olarak nükleusu aşarlar. 4. haftaya kadar sekresyon gland lümenlerine verilmiş olur. 18-24. günler arasında sekresyon maksimuma ulaştığında glandlar dilate olurlar. Yine 4. haftada glandlar uzun eksenleri kesilerek incelendiğinde kıvrımlı ve tırtıklı bir yapıya kavuşurlar. Sekresyonun azalması ve glandların büzülmesi bu tırtıklı veya testere dişi görüntüsünü daha belirgin hale getirir. Geç sekretuar fazda progesteron hormonunun da etkisi ile oluşan stromal değişimler endometrial dating olarak bilinen ve alınan endometrial örneğin siklusun kaçınıcı gününe denk geldiğinin belirlenmesi açısından önemlidir. Bu dönemde 21-22. günlerde spiral arterioller belirgin hale gelir. 23-24. günlere gelindiğinde ise stromal hücreler arasında zemin maddesi (ground substance) ve ödemde belirgin bir artış izlenir. Yine bu dönemde stromal hücrelerde hipertrofi ve sitoplazmik eozinofilik birikimler (pre-desidualizasyon bulgusu) ve stromal mitozun yeniden



Figür 6: Menstrual siklusta endometrial değişimlerin histolojik bulguları.

ortaya çıkması söz konusudur. Oluşan bu pre-desidualizasyon 24-28. günlerde stratum fonksiyon- alise yayılır, dağınık nötrofil ve daha nadiren de lenfositler izlenir. Ancak bu aşamada nötrofil veya lenfosit varlığı inflamasyon anlamına gelmez. Korpus luteumun ölümü ve progesteron hormonunun yokluğu ile stratum fonksiyon- alise tabakasında disintegrasyon izlenir ve kanın stromaya ulaşması ile menstrual dökülme başlar.

Östrojen ve progesteron hormonunun hangi mekanizmalara ile endometriumda yukarıda bahsedilen değişimlere neden olduğu sorusu hala büyük oranda belirsizliğini korumaktadır. Ancak yeni veriler göstermektedir ki sadece sistemik olarak değil lokal olarak endometriumda da üretilen ve otokrinparakrin etkiler gösteren pekçok mediator ve bunların başlattığı hücre içi sinyal yollarının koordine çalışması ile endometrial siklisme ve implantasyon için hazırlık sağlanmaktadır<sup>(124)</sup>. Gebelik oluşmadığında korpus luteumun ölümü ile progesteron (ve östrojen) hormonlarının çekilmesine endometriumun yanıtı menstruasyon şeklindedir. Menstruasyondaki endometrial değişimler endokrin ve immün sistemlerin asıl rol aldığı kompleks bir olaylar dizisidir<sup>(125)</sup>.

### **Endometriumda lökosit popülasyonları**

Menstrual siklusun gününe göre endometrial stromada farklı hücre popülasyonları izlenir. Bunlar başlıca T ve B lenfositleri ile mast hücreleri, makrofajlar ve nötrofillerdir. Geç sekretuar faz ve erken gebelikte fenotipik olarak yegane hücre tipi uterin natural killer (uNK) hücreleridir<sup>(126)</sup>. uNK hücreleri, implantasyon, plasantasyon ve desidualizasyon esnasında bulunan major lökosit grubudur. Endometriumdaki uNK popülasyonundaki siklik değişimler direk ve/veya indirek endokrin kontrol mekanizmalarının bulunduğunu göstermektedir. Dolaşımda da NK hücreleri bulunur ve yüzey belirteci olarak CD56 (soluk), CD16 (parlak) ve CD 3(negatif) iken, uNK hücreleri CD56 (parlak pozitif), CD16 ve CD3 negatif olmaları ile ayırt edilirler. Proliferatif dönemde sayıları az iken LH pikinden sonra sayıları hızla artıp endometrial bez yapıları ve spiral arterioller ile yakın temas haline geçerler<sup>(127)</sup>. uNK hücrelerinin periferik kandaki NK hücrelerinden mi köken aldığı yoksa insitu endometriumdamı proliferere oldukları sorusu hala tam yanıtlanmamış olsada periferik bir NK progenitor hücre tipinin endometriuma taşınıp orada uNK özelliği

kazandığına dair bulgular yanında endometriumda uNK proliferasyonunu da gösteren bulgular mevcuttur<sup>(124)</sup>. uNK hücrelerinde östrojen reseptör alfa (ER $\alpha$ ) ve progesteron reseptörü bulunmazken, östrojen reseptör beta (ER $\beta$ ) ve glukokortikoid reseptörleri tanımlanmıştır. Bu veriler östrojen ve glukokortikoidlerin uNK hücrelerinin direk etkileyerek endometrium ve desiduada gen transkripsiyonunu değiştirdiği fikrini desteklemektedir. İndirek olarak da östrojen hormonu interlökin-15 (IL-15) ve prolaktin ile diğer soluble faktörler aracılığı ile uNK üzerine etki göstermektedir. Aslında bu faktörler asıl uterin stromal hücreler tarafından salındığı ve uNK hücrelerinin de bu hücrelerde progesteron reseptörlerini idame ettirdiği düşünülürse progesteronun uNK hücreleri üzerinden bazı etkilerini gösterdikleri söylenebilir. Zira uNK hücrelerinde progesteron reseptörü yoktur. Anjiojenik faktör VEGF-A (vascular endothelial growth factor-A) endometriumda endotel hücrelerinin proliferasyon, diferansiyasyon ve migrasyonu yanında vasküler permeabiliteinde sağlanmasında rol oynarlar.

Endometriumdaki bir diğer lökosit grubu nötrofillerdir. Premenstruasyonda progesteron çekilmesine bağlı yıkım öncesi endometriumda bir nötrofil akışı izlenir. Ancak bunun dışındaki fonksiyonları net aydınlatılmamıştır.

Makrofajlar geç sekretuar fazda total lökosit popülasyonunun %20'sini oluştururlar<sup>(128)</sup>. Aslında tüm menstrual siklusta bulunan bu hücrelerin sayıları geç sekretuar fazda ve desiduada artar. Her ne kadar siklik olarak endometriumda bulunsalarda östrojen (ER-alfa) ve progesteron reseptörü barındırmazlar. Ekstraselüler matriksi yıkan matriks metalloprotein-azları (MMP) içermeleri sebebiyle menstruasyonda rolleri vardır. Ayrıca VEGF kaynağı olmaları özellikleri ile (hipoksi ve VEGF MMP yapımını uyarır) menstruasyon sonrası endometrial vaskülerizasyonda rolleri vardır.

Mast hücreleride endometriumda stromada lokalizedirler. Nötral proteazlar, tripsin gibi enzimler içerirler. Menstrual siklusta düzeyleri değişmemektedir, ancak menstruasyona yakın diffüz bir immunoreaktif pattern gösterirler.

### **İmplantasyon**

İnsan üreme yeteneğinin temel paradoksu, işlemin nisbeten başarısız olmasıdır. Bir menstrual siklusta konsepsiyon ihtimali yaklaşık %30'dur ve sadece tüm



konsepsiyonların % 50 ile 60'ı 20. gebelik haftasına ulaşır. Kaybedilen konsepsiyonların ise %75 gibi büyük bir oranı ise implantasyon aşamasında gerçekleşmekte ve dolayısıyla klinik olarak fark edilememektedir. Başarısız implantasyon yardımcı üreme tekniklerinde de kısıtlayıcı bir faktördür<sup>(129)</sup>.

İnsanda implantasyon moleküler düzeyde çok az anlaşılabilmiş, embriyonik trofoblast, epitel ve desidua ile immun sistem hücreleri ve ekstraselüler matriks komponentlerinin dahil olduğu karmaşık olaylar silsilesi olarak tanımlanabilir.

Başarılı bir implantasyon için sağlıklı bir blastokiste, reseptif bir endometriuma ve her ikisi arasında senkronize iyi bir diyaloga ihtiyaç vardır. İnsan endometriumu menstrual siklus süresince sırası ile proliferatif ve sekretuar değişimler geçirerek implantasyon penceresi olarak bilinen çok kısa bir reseptif döneme erişir. Ovulasyondan 6 gün sonra endometrium blastokiste reseptif hale gelir ve takip eden 4 gün bu şekilde kalır<sup>(130)</sup>(Figür 7). İmplantasyonun 3 aşaması vardır; apozisyon, adhezyon ve penetrasyon<sup>(131)</sup>. Blastokistin endometrial yüzeye stabil olmayan adhezyonuna apozisyon denir. Bu dönemde trofoblastlar luminal epitel ile kontak halindedir. Genel olarak memeli türlerinde konseptus materyalinin luminal epitele bağlanması için epitel yüzeyindeki bir glikokaliks içerisinde bulunan ve adhezyonu önleyen komponentlerin (asıl olarak musinler) değişimi zorunludur. Musin MUC-apikal uterin luminal epitelde lokalizedir ve adezyonu önlemede mekanik bir bariyer görevi görür. Fare, domuz ve koyunda reseptif fazda genel olarak tüm endometriumda, insan ve tavşanda ise lokal olarak implantasyon yerinde musini yıkan proteazların etkisi ile azalır<sup>(132)</sup>.

Aslında apozisyon öncesi de embriyo ve endometrium iletişim halinde. Hatching olarak bilinen ve trofoblastik hücre grubunun zona pellusidanın parçalanması ile dışarıya uzaması ile karakterize olayı takiben blastokist bazı moleküller salgılamaya başlar. Bu moleküller ovaryen aktivite, tubal motilite ve endometriyumun hazırlanmasını sağlarlar. Morula aşamasından itibaren colony-stimulating factor (CSF), epidermal growth factor (EGF), leukocyte inhibitory factor (LIF) ve E-cadherin reseptörleri embriyoda belirlemeye başlar. E-cadherin kalsiyum bağımlı hücre adhezyon molekülleri blastokistin embriyoya bağlanmasında rol alır. Bu dönemde embriyo ayrıca interlökin-1'de (IL-1 $\alpha$  ve  $\beta$ )

üretirken endometriuma belli bir oryantasyonda yapışmaya çalışır. IL-1 reseptörleri sekretuar fazda endometrial epitel hücrelerinde lokalize olup uterusda LIF üretimi için gereklidir. Platelet-activating factor (PAF) embriyo tarafından üretilen ve implantasyonda rolü olan başka bir faktördür. İmplantasyonun erken safhalarında ayrıca selectin ve galectinler, heparan sulfate proteoglycan, heparin binding epidermal growth factor (EGF) benzeri büyüme faktörleri ve CD44 rol alır. Stabil olmayan bu adhezyonlar implantasyonun sonraki aşamalarında integrinlerin ekstraselüler matriks proteinleri ile birleşmesi sonucu stabil hale gelir. İntegrin-ekstraselüler matriks etkileşimi aynı zamanda migrasyon, invazyon ve sitoskeletal organizasyonda da rol oynar<sup>(131-133)</sup>. İnsanda  $\alpha$ V $\beta$ 3 ve  $\alpha$ 4 $\beta$ 1 integrinler uterin luminal epitelde implantasyon döneminde artar. Yine bu dönemde fibronectin, onkofetal fibronectin, vitronectin, secreted phosphoprotein 1 (SPP1 veya osteopontin), laminin, transforming growth factor-beta (TGFB), laminin integrin-matriks bağlanmasında kritik öneme sahiptir<sup>(132)</sup>. Adhezyonu takiben embriyo luminal epitel stromaya doğru invaze ederek maternal vasküler yapılara ulaşmaya çalışır. Bu aktivitenin kontrol edilmesinde trofoblastlara ek olarak desiduanın rolü vardır. Desidualizasyon gebeliğin devamı için zorunlu olan endometrial stroma ve ekstraselüler matriks hücrelerin özel bir değişimidir. Bu değişimde LIF, IL-11 ve homeobox genleri HoxA10 ve HoxA11'in rolü vardır, invazyona yanıt olarak ve progesteron hormonu varlığında desidualizasyon gerçekleşir<sup>(131)</sup>.

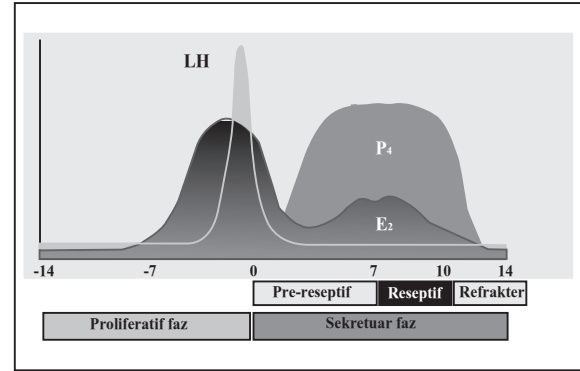
Endometrial reseptiviteyi gösteren belirteçlerin aranması yoğun bir araştırma konusu olmuştur. Çalışmalar arasında çok farklı metodolojiler bulunmasına rağmen günümüzde gen profil analizine yönelik çalışmalar ağırlık kazanmış ve güvenilir bilgi akışı sağlamıştır. Örneğin proliferatif ve sekretuar fazda alınan endometrial örneklerde global gen profillerini kıyaslayan analizlerde pekçok değişim farkedilmiştir. Örneğin, hücre yüzey proteinleri ve reseptörleri, ekstraselüler matriks proteinleri, sekretuar proteinler, immun modülatörler ve sitokinler, hücre iskelet proteinleri, transport proteinleri, transkripsiyon faktörleri yanında kolesterol metabolizması, prostaglandin biosentezi, detoksifikasyon, hücre siklusu, sinyal yolları, kemotaksis, anjiogenez ve fagositoz gibi çok farklı spektrumlarda rol alan gen dizilerinde değişimler olmaktadır<sup>(132)</sup>. Bu değişimlerin yaklaşık

%20'si hücre yüzey reseptörleri, adhezyon molekülleri, ekstraselüler matriks proteinleri ve büyüme faktörlerini kodlayan genlerde olmaktadır. Bunlara insanda uterin reseptivite belirteçleri olan glycodelin (placental protein 14), osteopontin (secreted phosphoprotein 1 (SPP1 veya osteopontin)), stromal hücre spesifik insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı proteinler 1 ve 2 (IGFBP1, IGFBP2), prostaglandin E2 reseptörü (EP2), interleukin-15 (IL15) and TGFB tip II reseptörü de dahildir. İlginç olarak SPP1 ekspresyonu insan uterusunda reseptif fazda 12 kat, gebelikte 60 kat artmaktadır<sup>(132)</sup>. Transkriptomik yaklaşımlarda implantasyon aşamasında up-regüle olan transkriptler şunlardır: osteopontin, decay accelerating factor for complement (CD55, Cromer blood group system), growth arrest - DNA damage-inducible protein (GADD45), apolipoprotein D, Dickkopf/DKK1, monoamine oxidase A (MAOA), interleukin-15 (IL15) ve mitogen-activated protein kinase 5 (MAP3K5)<sup>(133)</sup>. Pinopodlar endometrial luminal epitelden çıkan mantar veya balon şeklinde projeksiyonlardır. Hem insanda hemde kemirgenler gösterilmiştir. Pinopodlar sıçanlarda endometrial reseptiviteye denk gelen aralıkta eksprese olurken insanda luteal fazda 5 günden fazla bir sürede yani reseptivite sonrasında da eksprese olmaya devam etmektedir. Dolayısıyla endometrial reseptivitenin ne kadar güvenilir bir göstergesi oldukları soru işareti olarak kalmaya devam etmektedir<sup>(134)</sup>.

### Özet

Sonuç olarak overde folikül gelişimi ve buna yanıt olarak gelişen endometrial değişimler hipotalamo-hipofizer-gonadal aksın senkronize ve koordineli çalışması sonucu gerçekleşmektedir. Antral aşamaya kadar olan folikül büyümesi gonadotropinlere ihtiyaç duymadan parakrin-otokrin düzeyde faaliyet gösteren inhibitör ve aktivatör sinyallerin dengesi ile sağlanmaktadır. Antral aşamadan itibaren dominant folikül seçimi ve ovulasyona kadar uzanan yolculukta aslında bu parakrin-otokrin sinyaller etkinliklerini foliküllerin gonadotropinlere olan yanıtlarını modifiye ederek devam ettirmektedirler. Gonadotropinler antral aşamadan itibaren folikül büyümesini kontrol ederken büyüme faktörleri olan foliküllerden salınan aktivin A ve inhibin B yanında seks steroidleride gonadotropinlerin salınımını hipotalamik ve hipofizer düzeyde kontrol etmektedirler. Bu hormonal değişimlere yanıt veren ve ek olarak pek çok lokal olarak üretilen mediatörlerin yardımı ile

endometrium olası bir implantasyona karşı hazırlanmaktadır. Klinikte karşılaştığımız pek çok jinekolojik yakınma ve bozuklukların temelinde yukarıda bahsedilen fizyolojik olayların bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla folikül oluşumundan ovulasyona ve implantasyona kadar uzanan süreçte kontrol mekanizmalarının moleküler düzeyde iyi anlaşılması ile gelecekte pek çok terapötik uygulama imkanı sağlayacaktır.



Figür 7: Endometrial reseptivite (implantasyon penceresi).

### KAYNAKLAR

1. Ying, Y and Zhao, G Q, Cooperation of endoderm-derived BMP2 and extraembryonic ectoderm-derived BMP4 in primordial germ cell generation in the mouse. Dev Biol 2001; 232: 484- 92.
2. Ying, Y, Qi, X, and Zhao, G Q, Induction of primordial germ cells from murine epiblasts by synergistic action of BMP4 and BMP8B signaling pathways. Proc Natl Acad Sci U S A 2001; 98: 7858- 62.
3. Ohinata, Y, Ohta, H, Shigeta, M, Yamanaka, K, Wakayama, T, and Saitou, M, A signaling principle for the specification of the germ cell lineage in mice. Cell 2009; 137: 571- 84.
4. Lange, U C, Saitou, M, Western, P S, Barton, S C, and Surani, M A, The fragilis interferon-inducible gene family of transmembrane proteins is associated with germ cell specification in mice. BMC Dev Biol 2003; 3: 1.
5. Saitou, M, Barton, S C, and Surani, M A, A molecular programme for the specification of germ cell fate in mice. Nature 2002; 418: 293- 300.
6. Mc, K D, Hertig, A T, Adams, E C, and Danziger, S, Histochemical observations on the germ cells of human embryos. Anat Rec 1953; 117: 201- 19.
7. Merchant-Larios, H and Centeno, B, Morphogenesis of the ovary from the sterile W/Wv mouse. Prog Clin Biol Res 1981; 59B: 383- 92.

8. Oktem, O and Oktay, K, The ovary: anatomy and function throughout human life. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1127: 1- 9.
9. Waldeyer, W, Eierstock und EiEngleman. Leipzig 1870;
10. Zuckerman, S, The number of oocytes in the mature ovary. *Recent Prog Horm Res* 1951; 6: 63- 109.
11. Johnson, J, Canning, J, Kaneko, T, Pru, J K, and Tilly, J L, Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature* 2004; 428: 145- 50.
12. Johnson, J, Bagley, J, Skaznik-Wikiel, M, Lee, H J, Adams, G B, Niikura, Y, et al., Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell* 2005; 122: 303- 15.
13. Lee, H J, Selesniemi, K, Niikura, Y, Niikura, T, Klein, R, Dombkowski, D M, et al., Bone marrow transplantation generates immature oocytes and rescues long-term fertility in a preclinical mouse model of chemotherapy-induced premature ovarian failure. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3198- 204.
14. Allen, E, Ovogenesis during sexual maturity. . *Am J Anat* 1923; 439- 81.
15. Simkins, C, Development of the human ovary from birth to sexual maturity. *Am J Anat* 1932; 51: 465- 505.
16. Bukovsky, A, Caudle, M R, Svetlikova, M, and Upadhyaya, N B, Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol* 2004; 2: 20.
17. Bukovsky, A, Svetlikova, M, and Caudle, M R, Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol* 2005; 3: 17.
18. Eggan, K, Jurga, S, Gosden, R, Min, I M, and Wagers, A J, Ovulated oocytes in adult mice derive from non-circulating germ cells. *Nature* 2006; 441: 1109- 14.
19. Greenfeld, C and Flaws, J A, Renewed debate over postnatal oogenesis in the mammalian ovary. *Bioessays* 2004; 26: 829- 32.
20. Liu, Y, Wu, C, Lyu, Q, Yang, D, Albertini, D F, Keefe, D L, et al., Germline stem cells and neo-oogenesis in the adult human ovary. *Dev Biol* 2007; 306: 112- 20.
21. Zou, K, Yuan, Z, Yang, Z, Luo, H, Sun, K, Zhou, L, et al., Production of offspring from a germline stem cell line derived from neonatal ovaries. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 631- 6.
22. Oktem, O and Oktay, K, Quantitative assessment of the impact of chemotherapy on ovarian follicle reserve and stromal function. *Cancer* 2007; 110: 2222- 9.
23. Hershlag, A and Schuster, M W, Return of fertility after autologous stem cell transplantation. *Fertil Steril* 2002; 77: 419- 21.
24. Oktay, K, Spontaneous conceptions and live birth after heterotopic ovarian transplantation: is there a germline stem cell connection? *Hum Reprod* 2006; 21: 1345- 8.
25. Sanders, J E, Hawley, J, Levy, W, Gooley, T, Buckner, C D, Deeg, H J, et al., Pregnancies following high-dose cyclophosphamide with or without high-dose busulfan or total-body irradiation and bone marrow transplantation. *Blood* 1996; 87: 3045- 52.
26. Dalle, J H, Champagne, M A, and Duval, M, Pregnancy after bone marrow transplantation in Fanconi anaemia. *Br J Haematol* 2007; 137: 76; author reply
27. Baltus, A E, Menke, D B, Hu, Y C, Goodheart, M L, Carpenter, A E, de Rooij, D G, et al., In germ cells of mouse embryonic ovaries, the decision to enter meiosis precedes premeiotic DNA replication. *Nat Genet* 2006; 38: 1430- 4.
28. Abir, R, Orvieto, R, Dicker, D, Zukerman, Z, Barnett, M, and Fisch, B, Preliminary studies on apoptosis in human fetal ovaries. *Fertil Steril* 2002; 78: 259- 64.
29. Oktay, K, Karlikaya, G, Akman, O, Ojakian, G K, and Oktay, M, Interaction of extracellular matrix and activin-A in the initiation of follicle growth in the mouse ovary. *Biol Reprod* 2000; 63: 457- 61.
30. Eppig, J J, Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction* 2001; 122: 829- 38.
31. Skinner, M K, Regulation of primordial follicle assembly and development. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 461- 71.
32. Oktay, K, Briggs, D, and Gosden, R G, Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3748- 51.
33. O'Brien, M J, Pendola, J K, and Eppig, J J, A revised protocol for in vitro development of mouse oocytes from primordial follicles dramatically improves their developmental competence. *Biol Reprod* 2003; 68: 1682- 6.
34. Adhikari, D, Zheng, W, Shen, Y, Gorre, N, Hamalainen, T, Cooney, A J, et al., Tsc/mTORC1 signaling in oocytes governs the quiescence and activation of primordial follicles. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 397- 410.
35. Reddy, P, Liu, L, Adhikari, D, Jagarlamudi, K, Rajareddy, S, Shen, Y, et al., Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science* 2008; 319: 611- 3.
36. Castrillon, D H, Miao, L, Kollipara, R, Horner, J W, and DePinho, R A, Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science* 2003; 301: 215- 8.
37. Rajareddy, S, Reddy, P, Du, C, Liu, L, Jagarlamudi, K, Tang, W, et al., p27kip1 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) controls ovarian development by suppressing follicle endowment and activation and promoting follicle atresia in

- mice. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 2189- 202.
38. De Baere, E, Beysen, D, Oley, C, Lorenz, B, Cocquet, J, De Sutter, P, et al., FOXL2 and BPES: mutational hotspots, phenotypic variability, and revision of the genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 478- 87.
  39. Crisponi, L, Deiana, M, Loi, A, Chiappe, F, Uda, M, Amati, P, et al., The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet* 2001; 27: 159- 66.
  40. Gallardo, T D, John, G B, Bradshaw, K, Welt, C, Reijo-Pera, R, Vogt, P H, et al., Sequence variation at the human FO XO3 locus: a study of premature ovarian failure and primary amenorrhea. *Hum Reprod* 2008; 23: 216- 21.
  41. Liaw, D, Marsh, D J, Li, J, Dahia, P L, Wang, S I, Zheng, Z, et al., Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet* 1997; 16: 64- 7.
  42. Durlinger, A L, Gruijters, M J, Kramer, P, Karels, B, Ingraham, H A, Nachtigal, M W, et al., Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology* 2002; 143: 1076- 84.
  43. Durlinger, A L, Kramer, P, Karels, B, de Jong, F H, Uilenbroek, J T, Grootegoed, J A, et al., Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology* 1999; 140: 5789- 96.
  44. Visser, J A and Themmen, A P, Anti-Mullerian hormone and folliculogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2005; 234: 81- 6.
  45. Rajpert-De Meyts, E, Jorgensen, N, Graem, N, Muller, J, Cate, R L, and Skakkebaek, N E, Expression of anti-Mullerian hormone during normal and pathological gonadal development: association with differentiation of Sertoli and granulosa cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3836- 44.
  46. Hudson, P L, Dougas, I, Donahoe, P K, Cate, R L, Epstein, J, Pepinsky, R B, et al., An immunoassay to detect human mullerian inhibiting substance in males and females during normal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 16- 22.
  47. de Vet, A, Laven, J S, de Jong, F H, Themmen, A P, and Fauser, B C, Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77: 357- 62.
  48. van Rooij, I A, Broekmans, F J, te Velde, E R, Fauser, B C, Bancsi, L F, de Jong, F H, et al., Serum anti-Mullerian hormone levels: a novel measure of ovarian reserve. *Hum Reprod* 2002; 17: 3065- 71.
  49. Ebner, T, Sommergruber, M, Moser, M, Shebl, O, Schreier-Lechner, E, and Tews, G, Basal level of anti-Mullerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles. *Hum Reprod* 2006; 21: 2022- 6.
  50. Rankin, T, Familari, M, Lee, E, Ginsberg, A, Dwyer, N, Blanchette-Mackie, J, et al., Mice homozygous for an insertional mutation in the Zp3 gene lack a zona pellucida and are infertile. *Development* 1996; 122: 2903- 10.
  51. Lee, W S, Otsuka, F, Moore, R K, and Shimasaki, S, Effect of bone morphogenetic protein-7 on folliculogenesis and ovulation in the rat. *Biol Reprod* 2001; 65: 994- 9.
  52. Nilsson, E E and Skinner, M K, Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. *Biol Reprod* 2003; 69: 1265- 72.
  53. Dong, J, Albertini, D F, Nishimori, K, Kumar, T R, Lu, N, and Matzuk, M M, Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383: 531- 5.
  54. Carabatsos, M J, Elvin, J, Matzuk, M M, and Albertini, D F, Characterization of oocyte and follicle development in growth differentiation factor-9-deficient mice. *Dev Biol* 1998; 204: 373- 84.
  55. Vitt, U A, McGee, E A, Hayashi, M, and Hsueh, A J, In vivo treatment with GDF-9 stimulates primordial and primary follicle progression and theca cell marker CYP17 in ovaries of immature rats. *Endocrinology* 2000; 141: 3814- 20.
  56. Nilsson, E E and Skinner, M K, Growth and differentiation factor-9 stimulates progression of early primary but not primordial rat ovarian follicle development. *Biol Reprod* 2002; 67: 1018- 24.
  57. Solloway, M J, Dudley, A T, Bikoff, E K, Lyons, K M, Hogan, B L, and Robertson, E J, Mice lacking Bmp6 function. *Dev Genet* 1998; 22: 321- 39.
  58. Yan, C, Wang, P, DeMayo, J, DeMayo, F J, Elvin, J A, Carino, C, et al., Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 854- 66.
  59. Di Pasquale, E, Beck-Peccoz, P, and Persani, L, Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene. *Am J Hum Genet* 2004; 75: 106- 11.
  60. Galloway, S M, McNatty, K P, Cambridge, L M, Laitinen, M P, Juengel, J L, Jokiranta, T S, et al., Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nat Genet* 2000; 25: 279- 83.
  61. Nilsson, E E and Skinner, M K, Kit ligand and basic fibroblast growth factor interactions in the induction of ovarian primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 214: 19- 25.
  62. Nilsson, E E, Kezele, P, and Skinner, M K, Leukemia inhibitory

- factor (LIF) promotes the primordial to primary follicle transition in rat ovaries. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 188: 65-73.
63. Cheng, L, Gearing, D P, White, L S, Compton, D L, Schooley, K, and Donovan, P J, Role of leukemia inhibitory factor and its receptor in mouse primordial germ cell growth. *Development* 1994; 120: 3145- 53.
  64. Kezele, P, Nilsson, E E, and Skinner, M K, Keratinocyte growth factor acts as a mesenchymal factor that promotes ovarian primordial to primary follicle transition. *Biol Reprod* 2005; 73: 967- 73.
  65. Kezele, P R, Nilsson, E E, and Skinner, M K, Insulin but not insulin-like growth factor-1 promotes the primordial to primary follicle transition. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 192: 37- 43.
  66. Rajkovic, A, Pangas, S A, Ballow, D, Suzumori, N, and Matzuk, M M, NOBOX deficiency disrupts early folliculogenesis and oocyte-specific gene expression. *Science* 2004; 305: 1157-9.
  67. John, G B, Gallardo, T D, Shirley, L J, and Castrillon, D H, Foxo3 is a PI3K-dependent molecular switch controlling the initiation of oocyte growth. *Dev Biol* 2008; 321: 197- 204.
  68. Knight, P G and Glistler, C, TGF-beta superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006; 132: 191- 206.
  69. Goldenberg, R L, Powell, R D, Rosen, S W, Marshall, J R, and Ross, G T, Ovarian morphology in women with anosmia and hypogonadotropic hypogonadism. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 126: 91- 4.
  70. Oktay, K, Newton, H, Mullan, J, and Gosden, R G, Development of human primordial follicles to antral stages in SCID/hpg mice stimulated with follicle stimulating hormone. *Hum Reprod* 1998; 13: 1133- 8.
  71. McGee, E, Spears, N, Minami, S, Hsu, S Y, Chun, S Y, Billig, H, et al., Preantral ovarian follicles in serum-free culture: suppression of apoptosis after activation of the cyclic guanosine 3',5'-monophosphate pathway and stimulation of growth and differentiation by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 1997; 138: 2417- 24.
  72. Hreinsson, J G, Scott, J E, Rasmussen, C, Swahn, M L, Hsueh, A J, and Hovatta, O, Growth differentiation factor-9 promotes the growth, development, and survival of human ovarian follicles in organ culture. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 316- 21.
  73. Wang, J and Roy, S K, Growth differentiation factor-9 and stem cell factor promote primordial follicle formation in the hamster: modulation by follicle-stimulating hormone. *Biol Reprod* 2004; 70: 577- 85.
  74. Hayashi, M, McGee, E A, Min, G, Klein, C, Rose, U M, van Duin, M, et al., Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and differentiation of cultured early ovarian follicles. *Endocrinology* 1999; 140: 1236- 44.
  75. Hanrahan, J P, Gregan, S M, Mulsant, P, Mullen, M, Davis, G H, Powell, R, et al., Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biol Reprod* 2004; 70: 900- 9.
  76. Juengel, J L, Hudson, N L, Heath, D A, Smith, P, Reader, K L, Lawrence, S B, et al., Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. *Biol Reprod* 2002; 67: 1777- 89.
  77. Otsuka, F, Yao, Z, Lee, T, Yamamoto, S, Erickson, G F, and Shimasaki, S, Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions. *J Biol Chem* 2000; 275: 39523- 8.
  78. Otsuka, F, Moore, R K, Iemura, S, Ueno, N, and Shimasaki, S, Follistatin inhibits the function of the oocyte-derived factor BMP-15. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 289: 961- 6.
  79. Lee, W S, Yoon, S J, Yoon, T K, Cha, K Y, Lee, S H, Shimasaki, S, et al., Effects of bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) on primordial follicular growth in the mouse ovary. *Mol Reprod Dev* 2004; 69: 159- 63.
  80. Shimasaki, S, Zachow, R J, Li, D, Kim, H, Iemura, S, Ueno, N, et al., A functional bone morphogenetic protein system in the ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 7282- 7.
  81. Zhao, J, Taverne, M A, van der Weijden, G C, Bevers, M M, and van den Hurk, R, Effect of activin A on in vitro development of rat preantral follicles and localization of activin A and activin receptor II. *Biol Reprod* 2001; 65: 967- 77.
  82. Oktem, O and Oktay, K, The role of extracellular matrix and activin-A in in vitro growth and survival of murine preantral follicles. *Reprod Sci* 2007; 14: 358- 66.
  83. Liu, X, Andoh, K, Abe, Y, Kobayashi, J, Yamada, K, Mizunuma, H, et al., A comparative study on transforming growth factor-beta and activin A for preantral follicles from adult, immature, and diethylstilbestrol-primed immature mice. *Endocrinology* 1999; 140: 2480- 5.
  84. Smits, J, Cortvrindt, R, Hu, Y, and Vanderstichele, H, Effects of recombinant activin A on in vitro culture of mouse preantral follicles. *Mol Reprod Dev* 1998; 50: 294- 304.
  85. Juengel, J L and McNatty, K P, The role of proteins of the transforming growth factor-beta superfamily in the intraovarian regulation of follicular development. *Hum Reprod Update* 2005; 11: 143- 60.
  86. Roy, S K and Kole, A R, Ovarian transforming growth factor-

- beta (TGF-beta) receptors: in-vitro effects of follicle stimulating hormone, epidermal growth factor and TGF-beta on receptor expression in human preantral follicles. *Mol Hum Reprod* 1998; 4: 207- 14.
87. Chegini, N and Flanders, K C, Presence of transforming growth factor-beta and their selective cellular localization in human ovarian tissue of various reproductive stages. *Endocrinology* 1992; 130: 1707- 15.
  88. Saragueta, P E, Lanuza, G M, and Baranao, J L, Autocrine role of transforming growth factor beta1 on rat granulosa cell proliferation. *Biol Reprod* 2002; 66: 1862- 8.
  89. Dodson, W C and Schomberg, D W, The effect of transforming growth factor-beta on follicle-stimulating hormone-induced differentiation of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1987; 120: 512- 6.
  90. Adashi, E Y, Resnick, C E, Hernandez, E R, May, J V, Purchio, A F, and Twardzik, D R, Ovarian transforming growth factor-beta (TGF beta): cellular site(s), and mechanism(s) of action. *Mol Cell Endocrinol* 1989; 61: 247- 56.
  91. Durlinger, A L, Gruijters, M J, Kramer, P, Karels, B, Kumar, T R, Matzuk, M M, et al., Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology* 2001; 142: 4891- 9.
  92. Juneja, S C, Barr, K J, Enders, G C, and Kidder, G M, Defects in the germ line and gonads of mice lacking connexin43. *Biol Reprod* 1999; 60: 1263- 70.
  93. Simon, A M, Goodenough, D A, Li, E, and Paul, D L, Female infertility in mice lacking connexin 37. *Nature* 1997; 385: 525- 9.
  94. Baerwald, A R, Adams, G P, and Pierson, R A, Characterization of ovarian follicular wave dynamics in women. *Biol Reprod* 2003; 69: 1023- 31.
  95. Xiao, S, Robertson, D M, and Findlay, J K, Effects of activin and follicle-stimulating hormone (FSH)-suppressing protein/follistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 1992; 131: 1009- 16.
  96. Mizunuma, H, Liu, X, Andoh, K, Abe, Y, Kobayashi, J, Yamada, K, et al., Activin from secondary follicles causes small preantral follicles to remain dormant at the resting stage. *Endocrinology* 1999; 140: 37- 42.
  97. Liu, X, Andoh, K, Yokota, H, Kobayashi, J, Abe, Y, Yamada, K, et al., Effects of growth hormone, activin, and follistatin on the development of preantral follicle from immature female mice. *Endocrinology* 1998; 139: 2342- 7.
  98. Findlay, J K, An update on the roles of inhibin, activin, and follistatin as local regulators of folliculogenesis. *Biol Reprod* 1993; 48: 15- 23.
  99. Matzuk, M M, Kumar, T R, and Bradley, A, Different phenotypes for mice deficient in either activins or activin receptor type II. *Nature* 1995; 374: 356- 60.
  100. Guo, Q, Kumar, T R, Woodruff, T, Hadsell, L A, DeMayo, F J, and Matzuk, M M, Overexpression of mouse follistatin causes reproductive defects in transgenic mice. *Mol Endocrinol* 1998; 12: 96- 106.
  101. Yamoto, M, Minami, S, Nakano, R, and Kobayashi, M, Immunohistochemical localization of inhibin/activin subunits in human ovarian follicles during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 989- 93.
  102. Hsueh, A J, Dahl, K D, Vaughan, J, Tucker, E, Rivier, J, Bardin, C W, et al., Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine action in the modulation of luteinizing hormone-stimulated androgen biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84: 5082- 6.
  103. O, W S, Robertson, D M, and de Kretser, D M, Inhibin as an oocyte meiotic inhibitor. *Mol Cell Endocrinol* 1989; 62: 307-11.
  104. Silva, C C, Groome, N P, and Knight, P G, Demonstration of a suppressive effect of inhibin alpha-subunit on the developmental competence of in vitro matured bovine oocytes. *J Reprod Fertil* 1999; 115: 381- 8.
  105. Shimasaki, S, Moore, R K, Otsuka, F, and Erickson, G F, The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr Rev* 2004; 25: 72- 101.
  106. Erickson, G F and Shimasaki, S, The spatiotemporal expression pattern of the bone morphogenetic protein family in rat ovary cell types during the estrous cycle. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 9.
  107. Hall, J E, ed. *Neuroendocrine control of the menstrual cycle*. 6 ed., ed. J.F.S.a.R.L. Barbieri. Vol. 1. 2009, Saunders Elsevier: Philadelphia. 139- 54.
  108. Cheung, L W and Wong, A S, Gonadotropin-releasing hormone: GnRH receptor signaling in extrapituitary tissues. *FEBS J* 2008; 275: 5479- 95.
  109. Tsai, P S, Moenter, S M, Postigo, H R, El Majdoubi, M, Pak, T R, Gill, J C, et al., Targeted expression of a dominant-negative fibroblast growth factor (FGF) receptor in gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons reduces FGF responsiveness and the size of GnRH neuronal population. *Mol Endocrinol* 2005; 19: 225- 36.
  110. Dode, C, Levilliers, J, Dupont, J M, De Paepe, A, Le Du, N, Soussi-Yanicostas, N, et al., Loss-of-function mutations in FGFR1 cause autosomal dominant Kallmann syndrome. *Nat Genet* 2003; 33: 463- 5.
  111. Falardeau, J, Chung, W C, Beenken, A, Raivio, T, Plummer, L, Sidis, Y, et al., Decreased FGF8 signaling causes deficiency of gonadotropin-releasing hormone in humans and mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 2822- 31.

112. Crowley, W F, Jr., Filicori, M, Spratt, D I, and Santoro, N F, The physiology of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in men and women. *Recent Prog Horm Res* 1985; 41: 473- 531.
113. Welt, C K, Martin, K A, Taylor, A E, Lambert-Messerlian, G M, Crowley, W F, Jr., Smith, J A, et al., Frequency modulation of follicle-stimulating hormone (FSH) during the luteal-follicular transition: evidence for FSH control of inhibin B in normal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2645- 52.
114. Gougeon, A, Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results. *Hum Reprod* 1986; 1: 81- 7.
115. Welt, C K, McNicholl, D J, Taylor, A E, and Hall, J E, Female reproductive aging is marked by decreased secretion of dimeric inhibin. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 105- 11.
116. Filicori, M, Santoro, N, Merriam, G R, and Crowley, W F, Jr., Characterization of the physiological pattern of episodic gonadotropin secretion throughout the human menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1136- 44.
117. Gipson, I K, Moccia, R, Spurr-Michaud, S, Argueso, P, Gargiulo, A R, Hill, J A, 3rd, et al., The Amount of MUC5B mucin in cervical mucus peaks at midcycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 594- 600.
118. Martin, K A, Welt, C K, Taylor, A E, Smith, J A, Crowley, W F, Jr., and Hall, J E, Is GnRH reduced at the midcycle surge in the human? Evidence from a GnRH-deficient model. *Neuroendocrinology* 1998; 67: 363- 9.
119. Cella, F, Giordano, G, and Cordera, R, Serum leptin concentrations during the menstrual cycle in normal-weight women: effects of an oral triphasic estrogen-progestin medication. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 174- 8.
120. Snijders, M P, de Goeij, A F, Debets-Te Baerts, M J, Rousch, M J, Koudstaal, J, and Bosman, F T, Immunocytochemical analysis of oestrogen receptors and progesterone receptors in the human uterus throughout the menstrual cycle and after the menopause. *J Reprod Fertil* 1992; 94: 363- 71.
121. Carson, D D, Lagow, E, Thathiah, A, Al-Shami, R, Farach-Carson, M C, Vernon, M, et al., Changes in gene expression during the early to mid-luteal (receptive phase) transition in human endometrium detected by high-density microarray screening. *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 871- 9.
122. Kao, L C, Tulac, S, Lobo, S, Imani, B, Yang, J P, Germeyer, A, et al., Global gene profiling in human endometrium during the window of implantation. *Endocrinology* 2002; 143: 2119- 38.
123. Kao, L C, Germeyer, A, Tulac, S, Lobo, S, Yang, J P, Taylor, R N, et al., Expression profiling of endometrium from women with endometriosis reveals candidate genes for disease-based implantation failure and infertility. *Endocrinology* 2003; 144: 2870- 81.
124. Jabbour, H N, Kelly, R W, Fraser, H M, and Critchley, H O, Endocrine regulation of menstruation. *Endocr Rev* 2006; 27: 17- 46.
125. Critchley, H O, Kelly, R W, Brenner, R M, and Baird, D T, The endocrinology of menstruation--a role for the immune system. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 55: 701- 10.
126. Henderson, T A, Saunders, P T, Moffett-King, A, Groome, N P, and Critchley, H O, Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 440- 9.
127. King, A, Burrows, T, Verma, S, Hiby, S, and Loke, Y W, Human uterine lymphocytes. *Hum Reprod Update* 1998; 4: 480- 5.
128. Salamonsen, L A and Woolley, D E, Menstruation: induction by matrix metalloproteinases and inflammatory cells. *J Reprod Immunol* 1999; 44: 1- 27.
129. Norwitz, E R, Schust, D J, and Fisher, S J, Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med* 2001; 345: 1400- 8.
130. Bergh, P A and Navot, D, The impact of embryonic development and endometrial maturity on the timing of implantation. *Fertil Steril* 1992; 58: 537- 42.
131. Cakmak, H and Taylor, H S, Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Hum Reprod Update* 2011; 17: 242- 53.
132. Bazer, F W, Wu, G, Spencer, T E, Johnson, G A, Burghardt, R C, and Bayless, K, Novel pathways for implantation and establishment and maintenance of pregnancy in mammals. *Mol Hum Reprod* 2010; 16: 135- 52.
133. Aghajanova, L, Hamilton, A E, and Giudice, L C, Uterine receptivity to human embryonic implantation: histology, biomarkers, and transcriptomics. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 204- 11.
134. Quinn, C E and Casper, R F, Pinopodes: a questionable role in endometrial receptivity. *Hum Reprod Update* 2009; 15: 229- 36.
135. Lawson, K A, Dunn, N R, Roelen, B A, Zeinstra, L M, Davis, A M, Wright, C V, et al., Bmp4 is required for the generation of primordial germ cells in the mouse embryo. *Genes Dev* 1999; 13: 424- 36.
136. Tremblay, K D, Dunn, N R, and Robertson, E J, Mouse embryos lacking Smad1 signals display defects in extra-embryonic tissues and germ cell formation. *Development* 2001; 128: 3609- 21.
137. Chang, H and Matzuk, M M, Smad5 is required for mouse primordial germ cell development. *Mech Dev* 2001; 104: 61- 7.

138. Tsuda, M, Sasaoka, Y, Kiso, M, Abe, K, Haraguchi, S, Kobayashi, S, et al., Conserved role of nanos proteins in germ cell development. *Science* 2003; 301: 1239- 41.
139. Ohinata, Y, Payer, B, O'Carroll, D, Ancelin, K, Ono, Y, Sano, M, et al., Blimp1 is a critical determinant of the germ cell lineage in mice. *Nature* 2005; 436: 207- 13.
140. Yamaji, M, Seki, Y, Kurimoto, K, Yabuta, Y, Yuasa, M, Shigeta, M, et al., Critical function of Prdm14 for the establishment of the germ cell lineage in mice. *Nat Genet* 2008; 40: 1016- 22.
141. Beck, A R, Miller, I J, Anderson, P, and Streuli, M, RNA-binding protein TIAR is essential for primordial germ cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 2331- 6.
142. AgoulNIK, A I, Lu, B, Zhu, Q, Truong, C, Ty, M T, Arango, N, et al., A novel gene, Pog, is necessary for primordial germ cell proliferation in the mouse and underlies the germ cell deficient mutation, gcd. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 3047- 53.
143. Huang, E J, Manova, K, Packer, A I, Sanchez, S, Bachvarova, R F, and Besmer, P, The murine steel panda mutation affects kit ligand expression and growth of early ovarian follicles. *Dev Biol* 1993; 157: 100- 9.
144. Manova, K, Huang, E J, Angeles, M, De Leon, V, Sanchez, S, Pronovost, S M, et al., The expression pattern of the c-kit ligand in gonads of mice supports a role for the c-kit receptor in oocyte growth and in proliferation of spermatogonia. *Dev Biol* 1993; 157: 85- 99.
145. Soyal, S M, Amleh, A, and Dean, J, FIGalpha, a germ cell-specific transcription factor required for ovarian follicle formation. *Development* 2000; 127: 4645- 54.
146. Liang, L, Soyal, S M, and Dean, J, FIGalpha, a germ cell specific transcription factor involved in the coordinate expression of the zona pellucida genes. *Development* 1997; 124: 4939- 47.
147. Trombly, D J, Woodruff, T K, and Mayo, K E, Suppression of Notch signaling in the neonatal mouse ovary decreases primordial follicle formation. *Endocrinology* 2009; 150: 1014- 24.
148. Ruggiu, M, Speed, R, Taggart, M, McKay, S J, Kilanowski, F, Saunders, P, et al., The mouse Dazla gene encodes a cytoplasmic protein essential for gametogenesis. *Nature* 1997; 389: 73- 7.
149. Dissen, G A, Romero, C, Hirshfield, A N, and Ojeda, S R, Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology* 2001; 142: 2078- 86.
150. Di Giacomo, M, Barchi, M, Baudat, F, Edelmann, W, Keeney, S, and Jasin, M, Distinct DNA-damage-dependent and -independent responses drive the loss of oocytes in recombination-defective mouse mutants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 737- 42.
151. Luoh, S W, Bain, P A, Polakiewicz, R D, Goodheart, M L, Gardner, H, Jaenisch, R, et al., Zfx mutation results in small animal size and reduced germ cell number in male and female mice. *Development* 1997; 124: 2275- 84.
152. Plug, A W, Peters, A H, Xu, Y, Keegan, K S, Hoekstra, M F, Baltimore, D, et al., ATM and RPA in meiotic chromosome synapsis and recombination. *Nat Genet* 1997; 17: 457- 61.
153. Schmidt, D, Ovitt, C E, Anlag, K, Fehsenfeld, S, Gredsted, L, Treier, A C, et al., The murine winged-helix transcription factor Foxl2 is required for granulosa cell differentiation and ovary maintenance. *Development* 2004; 131: 933- 42.