



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2023; 37 (1): 21 - 25  
http://www.fusabil.org

### Östrüs Siklusu Boyunca Sıçan Ovaryumunda ADAMTS-1 Metalloproteinazının Dağılımı

Tuba PARLAK AK<sup>1,a</sup>  
Özgür BULMUŞ<sup>2,b</sup>  
Ali BAYRAKDAR<sup>3,c</sup>  
Mine YAMAN<sup>4,d</sup>

<sup>1</sup> Munzur Üniversitesi,  
Sağlık Bilimleri Fakültesi,  
Beslenme ve Diyetetik  
Bölümü,  
Tunceli, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Balıkesir Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi,  
Fizyoloji Ana Bilim Dalı,  
Balıkesir, TÜRKİYE

<sup>3</sup> Balıkesir Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji Ana  
Bilim Dalı,  
Balıkesir, TÜRKİYE

<sup>4</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Histoloji ve Embriyoloji  
Ana Bilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0002-8318-7995

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0001-7736-402X

<sup>c</sup> ORCID: 0000-0002-1627-2102

<sup>d</sup> ORCID: 0000-0001-9427-9150

A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondins Motifs 1 (ADAMTS-1), ovaryumdaki foliküler gelişim sırasında folikül bütünlüğünü ve işlevselliğini sürdürmek amacıyla yeniden şekillenmede rol oynayan bir metalloproteinazdır. Bu çalışmada, dişi sıçanların farklı östrüs siklusu evrelerindeki ovaryum dokularında ADAMTS-1 immüno lokalizasyonu incelendi. Vajinal smear yöntemi ile düzenli siklus gösteren hayvanlar tercih edilerek 18 adet Wistar Albino cinsi sıçan; proöstrüs (Grup I), östrüs (Grup II) ve diöstrüs (Grup III) olmak üzere üç gruba ayrıldı. Proöstrüs evresinde; folikül epitel hücreleri, teka hücreleri, lüteal hücreler ve intersitisyel hücrelerde yoğun ADAMTS-1 immüno reaktivitesinin proöstrüs evresinde (2.84±0.13) östrüs (1.18±0.07) ve diöstrüs (1.08±0.10) evrelerine göre en yüksek değere (P<0.05) ulaştığı tespit edildi. Sonuç olarak; foliküler gelişim, ovülasyon ve regresyon süreçlerini içeren farklı siklus evrelerinin ekstrasellüler matriksindeki (ESM) yapısal değişikliklerle ilişkili olarak ADAMTS-1 immüno reaktivitesinde farklılıklar belirlendi.

**Anahtar Kelimeler:** ADAMTS-1, östrüs siklusu, sıçan, immünohistokimya

#### Distribution of ADAMTS-1 Metalloproteinase in the Rat Ovary during the Estrous Cycle

A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondins Motifs 1 (ADAMTS-1) is a metalloproteinase involved in remodeling to maintain follicle integrity and functionality during follicular development in the ovary. In this study, ADAMTS-1 immunolocalization was investigated in ovarian tissues of female rats at different oestrus cycle stages. Eighteen Wistar Albino rats were divided into three groups as proestrus (Group I), estrus (Group II) and diestrus (Group III) animals by choosing animals with regular cycles by vaginal smear method. In the proestrus stage, intense ADAMTS-1 immunoreactivity was observed in follicle epithelial cells, theca cells, luteal cells and interstitial cells. In the estrus phase, less intense ADAMTS-1 immunoreactivity was detected in these ovarian cells compared to the proestrus stage. In the diestrus phase, the staining intensity was found similar to the estrus phase in follicular cells and theca cells, but lighter in luteal and interstitial cells. According to the histoscore data, it was determined that ADAMTS-1 immunoreactivity reached the highest value (P<0.05) in proestrus stage (2.84±0.13) compared to estrus (1.18±0.07) and diestrus (1.08±0.10) stages. As a result, differences in ADAMTS-1 immunoreactivity were determined in relation to the structural changes in the extracellular matrix (ECM) of different cycle stages including follicular development, ovulation and regression processes.

**Key Words:** ADAMTS-1, estrous cycle, rat, immunohistochemistry

#### Giriş

Ekstrasellüler matriks (ESM), hücreler arası mikroçevrenin önemli yapısal ve fonksiyonel bir komponentidir. ESM'nin yeniden şekillenebilen dinamik yapısı; hücrenin proliferasyon, diferansiyasyon, adezyon ve migrasyon gibi fonksiyonları ile membran proteinlerinin yıkımı ve proteolizis gibi biyolojik olayların gerçekleşmesinde önemli bir role sahiptir (1). ESM'nin esas bileşenleri olarak görev yapan proteoglikanlar, matriksin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasının yanı sıra yeniden şekillenmesinde oldukça etkilidirler (2). Bu proteoglikanlardan versikan ve agrekana karşı katalitik aktiviteye sahip olan bazı ESM metalloproteinazları görev almaktadır (3).

Ovariyan fonksiyon, üreme döngüsü boyunca meydana gelen bir dizi doku yeniden şekillenme olaylarına bağlıdır (4). Ovaryumdaki ESM'nin çoğalma, farklılaşma, hayatta kalma dahil olmak üzere folikül büyümesi ve olgunlaşması için gerekli olan hücresel süreçleri düzenlediği bilinmektedir (5). ESM'nin sentezi ve degradasyonu ise ovülasyon, korpus lüteum oluşumu ve lüteal regresyon için hayati öneme sahiptir (4). ESM dönüşüm ve homeostazisinin kontrolü, matriks metalloproteinazları (MMP) olarak bilinen proteolitik enzimlerin etkisiyle gerçekleşmektedir. MMP'ından biri olan ADAMTS-1 (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondins Motifs 1), ovaryumdaki foliküler gelişim sırasında folikül bütünlüğünü ve işlevselliğini sürdürmek amacıyla yeniden şekillenmede rol oynamaktadır (6). Esas olarak mural granuloza hücreleri tarafından üretilen ADAMTS-1'in (7, 8) mRNA ekspresyonunun rodent ovaryumunda LH artışı sonrasında yükselerek preovülasyon foliküllerinde bazı proteoglikanların parçalandığı

Geliş Tarihi : 01.07.2022  
Kabul Tarihi : 20.12.2022

#### Yazışma Adresi Correspondence

Tuba PARLAK AK  
Munzur Üniversitesi,  
Sağlık Bilimleri Fakültesi,  
Beslenme ve Diyetetik  
Bölümü  
Tunceli – TÜRKİYE

tubaparlakak@munzur.edu.tr

yer olan kumulus oosit kompleksinde lokalize olduğu tanımlanmıştır (7). Ayrıca ADAMTS-1'den yoksun farelerin ovarian foliküllerinde olgun oositlerin hapsolduğu bildirilmiş ve normal ovülasyon için ADAMTS-1'in gerekli olduğu öne sürülmüştür (9).

Ovaryum, foliküllerin sürekli olarak büyüyüp ovüle olduğu veya gerilediği döngüsel doku morfogenezisinden geçen dinamik bir organdır (10-12). Bu döngüsel aşamalar, kontrollü yeniden şekillenme, hücre farklılaşması ve hücre ölümlü süreçleri boyunca memeli ovariumunun sabit tutulmasını sağlamaktadır (13). Ovaryumda foliküler gelişim sırasında yani folikül büyürken ve küçük bir primordiyal folikülden büyük bir preovülatör Graff folikülüne giden yol boyunca farklılaştıkça, ESM'de kapsamlı hücresele proliferasyon ve yeniden şekillenme meydana gelmektedir. Foliküler ESM'deki morfolojik değişiklikler, ovülasyondan önce ovarian MMP aktivitesinde bir artışı içeren bir dizi proteolitik olayın etkisiyle meydana gelmektedir. Ovülasyon sürecinde proteolizisin apikal foliküler bağdokusunu bozduğu, foliküler duvar yapısının bütünlüğünü değiştirdiği ve böylece oosit salınımını kolaylaştırdığı varsayılmaktadır (6). Dolayısıyla MMP sisteminin, östrüs siklusu boyunca ovariumda meydana gelen bu dinamik yapısal değişiklikleri düzenlediği düşünülmektedir. Bununla birlikte bu sistemdeki bazı MMP'lerin salınımını veya etkinliğini modüle eden ADAMTS-1 proteazının, östrüs siklusu evrelerindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Bu amaçla mevcut çalışmada, siçanların farklı östrüs siklusu evrelerindeki ovarium dokularında muhtemel ADAMTS-1 immünolokalizasyonunun gösterilmesi amaçlandı.

## Gereç ve Yöntem

**Araştırma ve Yayın Etiği:** Siçanlar üzerinde uygulanan tüm prosedürler, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (FÜHADYEK) tarafından onaylanmış etik kurul izni (Etik no: 13.02.2019-2019/03-31-2019/20) ile gerçekleştirildi.

**Hayvanlar ve Deneysel Dizayn:** Çalışmada 3-4 aylık, 18 adet dişi Wistar Albino cinsi siçan kullanıldı. Siçanlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM, Elaziğ, TÜRKİYE) temin edildi ve çalışma süresince buradaki standart laboratuvar koşullarında (% 40-60 nem, 24±3 °C sıcaklık, 12 saat aydınlık: 12 saat karanlık döngüsü) barındırılarak yem ve su ad *libitum* olarak sağlandı. Östrüs siklusunun evreleri vajinal smear yöntemi ile belirlendi ve ardışık üç düzenli siklus takibi gösteren hayvanlar çalışmaya dahil edildi (14). Vajinal smear örnekleri incelendiğinde; proöstrüsün erken evresinde şişmiş oval düz nükleer epitelyal hücreler, östrüs evresinde çoğunlukla keratinize epitelyal hücreler ve diöstrüs evresinde çoğunlukla beyaz kan hücreleri tespit edildi. Siçanlar, her grupta 6 adet olmak üzere toplam üç gruba ayrıldı. Gruplar; proöstrüs (Grup I), östrüs (Grup II) ve diöstrüs (Grup III) olarak belirlendi.

**Işık Mikroskop Prosedürü:** Siçanlar dekapite edilerek laparotomi ile ovarium dokuları alınıp immunohistokimyasal incelemeler için değerlendirildi. Dokular, formalin solüsyonunda (%10) tespit edildikten

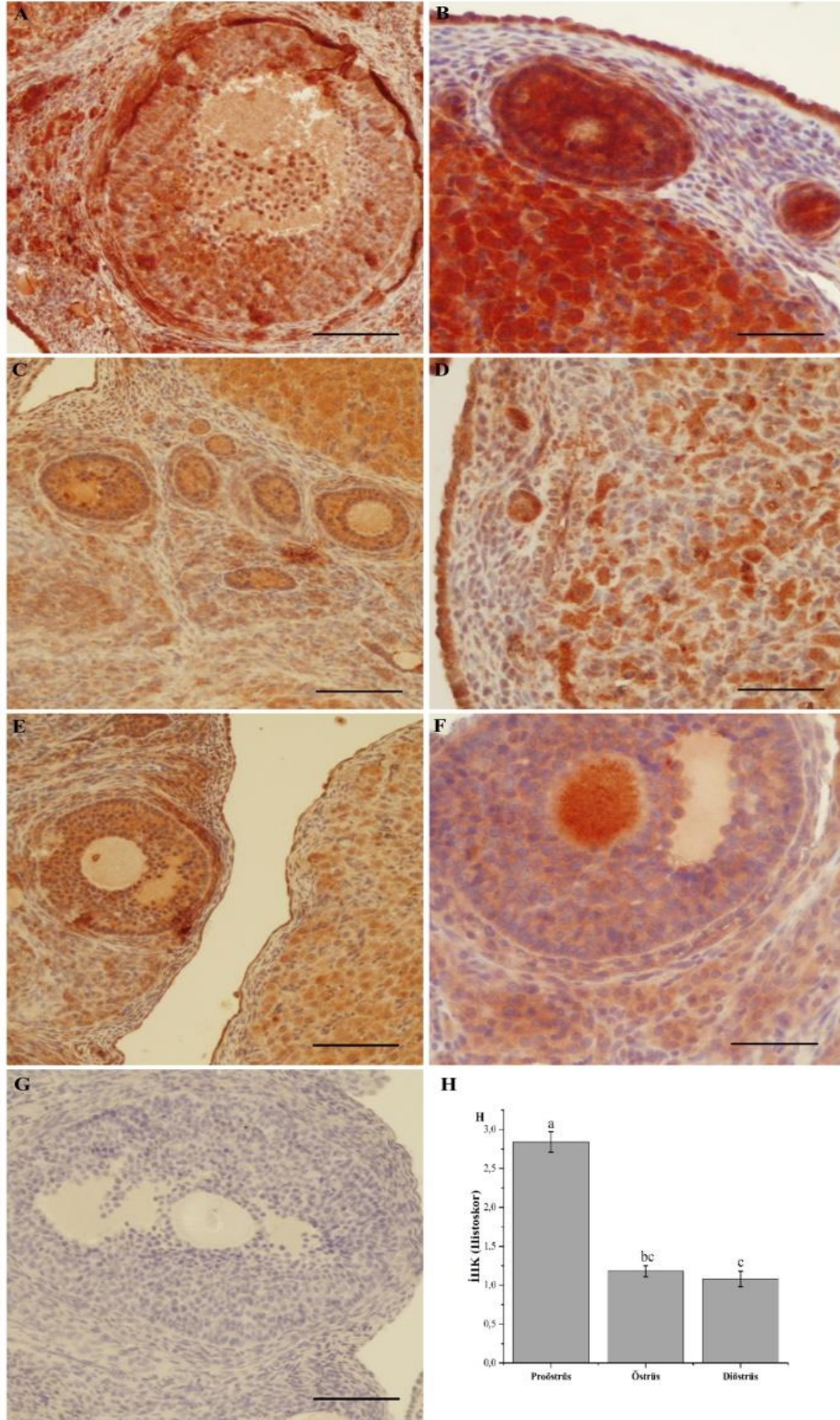
sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı (15). 5 µm kalınlığındaki kesitler immünohistokimyasal incelemeler için kullanılarak ışık mikroskobu (Olympus BX-51, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, JAPAN) altında değerlendirildi.

**İmmünohistokimya Prosedürü:** Avidin-biotin-peroksidaz kompleksi yöntemine göre immünohistokimya (İHK) boyama prosedürü uygulandı (16, 17). Rabbit poliklonal Anti-ADAMTS-1 antikoru (1/300; ab39194; Abcam, Cambridge, UK) birincil antikor olarak uygulandı. Diğer aşamalar için uygulanan İHK kiti (Cat. No. TP-015-HA, UltraVision Detection System, Anti-polyvalent, HRP/AEC, Thermo Fisher Scientific Co., USA) temin edilen firmanın talimatlarına göre kullanıldı. Boyama, 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) kromojeni kullanılarak tamamlandı. Kesitler, Mayer'in hematoksileni ile zıt boyanarak medium ile kapatıldı. İHK boyamaları 0=negatif, 0.5=eser, 1=hafif, 2=orta ve 3=yoğun olmak üzere 0-3 arasında sayısal bir puanlama ile hesaplandı. Negatif alanlara 0, <% 25 boyama alanlarına 0.1, %26-50 boyama alanlarına 0.4, %51-75 boyama alanlarına 0.6 ve %76-100 boyama alanlarına 0.9 değerleri verildi. Nihai histoskor hesaplaması: Histoskor= Alan×Yoğunluk formülü kullanılarak yapıldı (18).

**İstatistiksel Analiz:** İstatistiksel veriler, IBM SPSS/PC (Versiyon 21.0, IBM Co., North Castle, New York, ABD) yazılım programı ile analiz edildi. Veriler ortalama ± standart sapma olarak sunuldu. Her bir sürekli değişken, normallik Shapiro Wilks testi ile kontrol edildi. Sürekli değişkenler parametrik olmayan veriler için Kruskal-Wallis ile Mann-Whitney U testi kullanılarak post hoc analizi ile karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılık P<0.05 olarak belirlendi.

## Bulgular

**İmmünohistokimyasal Değerlendirmeler:** Proöstrüs evresinde folikül epitel hücreleri, teka hücreleri, lüteal hücreler ve intersitisyel hücrelerde yoğun ADAMTS-1 immünoaktivitesi gözlemlendi (Şekil 1A). Özellikle lüteal hücrelerde gözlenen yaygın boyamanın, nükleus çevresindeki sitoplazmada yoğunlaşma eğilimi sergilediği tespit edildi (Şekil 1B). Östrüs evresinde proöstrüs evresine göre folikül epitel hücreleri, teka hücreleri, intersitisyel hücreler ve lüteal hücrelerde daha az yoğun ADAMTS-1 immünoaktivitesi belirlendi (Şekil 1C). Bu hücrelerdeki boyamanın yaygın olduğu ve daha çok sitoplazmada lokalize olduğu dikkati çekti (Şekil 1D). Diöstrüs evresinde folikül epitel hücreleri, teka hücreleri, lüteal hücreler ve intersitisyel hücrelerde ADAMTS-1 immünoaktivitesi saptandı (Şekil 1E). Boyama yoğunluğunun, foliküler hücreler ile teka hücrelerinde östrüs evresine benzer olduğu, lüteal hücreler ve intersitisyel hücrelerde ise daha hafif olduğu göze çarptı (Şekil 1F). ADAMTS-1 immünoaktivitesine ait histoskor verileri Şekil 1H'de verildi. Bu verilere göre, ADAMTS-1 immünoaktivitesinin proöstrüs evresinde (2.84±0.13) östrüs (1.18±0.07) ve diöstrüs (1.08±0.10) evrelerine göre en yüksek değerde (P<0.05) olduğu belirlendi.



**Şekil 1.** Östrüs siklusu evrelerinde ovaryumda ADAMTS-1 immünoreaktivitesinin dağılımı. Proöstrüs (A, B), östrüs (C, D), diöstrüs (E, F), negatif kontrol (G), ADAMTS-1 immünoreaktivite histoskoru (H). Skala bar: 200 µm (A, C, E, G), Skala bar: 100 µm (B, D, F). Veriler her grup için ortalama ± standart sapma olarak verildi (P<0.05). ADAMTS-1: A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondins Motifs 1

## Tartışma

Matriks metalloproteinazları, östrüs siklusu boyunca ovaryumda meydana gelen yapısal değişiklikleri düzenleyerek reproduktif fonksiyonları kontrol etmektedir. Çeşitli hormonlar, sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından düzenlenen bu yapısal değişiklikler, ovaryum fizyolojisi için oldukça önemlidir (4). Ovülasyon, östrüs siklusu sırasında lüteinleştirici hormon (LH) dalgalanması tarafından harekete geçirilen dinamik bir süreç olarak tanımlanmaktadır. LH, folikül duvarının parçalanması ve oositin ekstrüzyonu ile sonuçlanan bir dizi biyokimyasal olayı başlatmakta ve senkronize etmektedir (19, 20). Bu biyokimyasal olaylar yapısal değişiklikleri düzenleyen faktörler ile MMP gibi proteolitik enzimlerin sentezini ve salgılanmasını içermektedir. Ovülasyon öncesi proteolitik olayların etkisiyle meydana gelen ovarian MMP aktivitesindeki artış ise foliküler ESM'de değişikliklere yol açmaktadır. Foliküler ESM'deki bu değişikliklerle bağlantılı olarak foliküler apeksin granuloza hücrelerinde bozulma ve kollajen matrikste parçalanma gözlenmektedir (6).

Matriks metalloproteinaz üyesi olan ADAMTS-1'in foliküler yırtılmaya aracılık eden bir proteaz olduğu bilinmektedir. ADAMTS-1, granuloza hücre reseptörlerini bloke eden proteoglikanları parçalayarak bu hücrelerin gonadotropinlere olan hormonal tepkisini kolaylaştırmakta ve oosit salınımına izin vermektedir (21). Ayrıca ADAMTS-1'in östrüs siklusu evrelerindeki ovarian yapısal değişikliklerin düzenlenmesinde etkili olan bazı faktörlerin salınımını veya etkinliğini modüle ettiği düşünülmektedir.

Çalışmada, siklus evrelerindeki dişi sıçanların ovaryum dokularında ADAMTS-1 immünoaktivitesinin yoğunluğu ve yaygınlığı incelendi. Östrüs siklusu sırasında ADAMTS-1 immünoaktivitesinin siklus aşamaları boyunca değişiklikler sergilediği tespit edildi. Foliküler gelişimin gözlemlendiği proöstrüs evresinde boyama yoğunluğunun ve yaygınlığının oldukça dikkat çekici olduğu gözlemlendi. Bu bağlamda, insan koriyonik gonadotropini (hCG) ile süperovüle edilmiş immatür sıçanlarda olgun foliküllerin granuloza hücrelerine lokalize olan ADAMTS-1'in belirgin bir periovülatör artışı ortaya konulmuştur (22). ADAMTS-1 null mutasyonuna sahip farelerde yapılan çalışmalar, ovülasyonun % 70-90 oranında azaldığını kanıtlamıştır. Bununla birlikte bu farelerin, folikülogenezis evrelerinde de belirgin bir gecikme gösterdikleri belirtilmiştir (23). Ayrıca başka bir çalışmada (9), ADAMTS-1 null farelerde oositlerin foliküllerden salınımının azalmasıyla birlikte ovülasyon sürecinin bozulduğu ve infertilitenin oluştuğu bildirilmiştir. Bahsedilen bilgiler doğrultusunda, bu evredeki foliküler gelişimin folikül ESM'indeki morfolojik değişiklikleri beraberinde getirdiği ve proteolitik aktivitenin de gerekli

olduğu kanısına varılmaktadır. Dolayısıyla ADAMTS-1'in de bu yapısal değişiklikler üzerinde önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.

Foliküler gelişimin devam ettiği ve sonrasında ovülasyon sürecinin başladığı östrüs evresinde, proöstrüs evresine göre daha az yoğunlukta ADAMTS-1 immünoaktivitesi belirlendi. Ovülasyon öncesi aşamada folikül duvarını kaplayan mural hücrelerden salgılanan ADAMTS-1'in, genişleyen kumulus hücre matriksine lokalize olduğu ve bu işlem sırasında versikanı parçaladığı bildirilmiştir (9). ADAMTS-1 null farelerde yapılan çalışmalarda, versikan yıkımlanamadığı için ovülatör fonksiyonunun bozulduğu ve infertilitenin gözlemlendiği ortaya konulmuştur. Buna ilaveten bu farelerin ESM'nin yeniden şekillenme sürecinin de oluşmadığı saptanmıştır (1). Ayrıca ovülasyon esnasında kumulus oosit kompleksinin ovaryumdan salınabilmesi için tekal hücre ESM'nin de parçalanması gerektiği belirtilmiştir (24). ESM'de gözlenen bu morfolojik değişikliklerin sonucunda oluşan ürünlerin, ADAMTS-1 işlevselliği için substrat görevi gördüğü ve ADAMTS-1'i aktive ettiği ifade edilebilmektedir.

Siberian hamsterlarında östrüs siklusu boyunca ovarian MMP'lerin immünohistokimyasal olarak incelendiği bir çalışmada, diöstrüs evresinde gözlenen MMP yoğunluğundaki azalmanın, östradiol (E2) konsantrasyonundaki düşüş ile bağlantılı olduğu ifade edilmiştir (4). Ovülasyon sonrası regresyon süreci olarak tanımlanan diöstrüs evresinin başlarında, E2 seviyelerinin düşük olduğu bilinmektedir (25). Ayrıca bu evrede antral foliküllerin sayısının ve foliküler hücre boyama yoğunluğunun azaldığı bildirilmiştir (4). Benzer şekilde çalışmada diöstrüs evresinde, ADAMTS-1 immünoaktivitesinin tüm ovarian hücrelerde azaldığı belirlendi.

Bu gözlemler ışığında, sıçan ovaryumunun farklı östrüs siklusu evrelerindeki immünohistokimyasal ve moleküler ADAMTS-1 ekspresyonuna daha önce rastlanmamıştır. Bu çalışma normal ovarian siklusundaki ADAMTS-1 lokalizasyonunu inceleyen ilk araştırmadır. Elde edilen sonuçlar ile bu süreçteki bir dizi olayın meydana gelebilmesi için ADAMTS-1'in anahtar bir rol oynadığı gösterilmektedir. Foliküler gelişim, ovülasyon ve regresyon süreçlerini içeren farklı siklus evrelerinin ESM'indeki yapısal değişikliklerle ilişkili olarak ADAMTS-1 immünoaktivitesinde farklılıklar olduğu belirlendi. Özellikle proöstrüs evresindeki yoğun ADAMTS-1 immünoaktivitesi, sıçanların preovülatuar döneminde proteazların rolünün oldukça önemli olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla ADAMTS-1'in reproduktif fonksiyonlardaki proteaz aktivitesinin hala araştırılması gereken yönlerinin olduğu ifade edilebilir.

## Kaynaklar

1. Kalem Z, Namlı Kalem M, Şimşir C. Reprodüktif sistemde ADAMTS genleri. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2019; 45: 111-118.
2. Cömertoğlu İ, Sarıkaya E, Demirel M, Akyol S, Demircan K. ADAMTS gen ailesinin obstetrik ve jinekolojideki yeri. Jinekoloji-Obstetrik ve Neonatoloji Tıp Dergisi 2014; 11: 144-149.
3. Torres-Collado AX, Kisiel W, Iruela-Arispe ML, Rodriguez-Manzaneque JC. ADAMTS1 interacts with, cleaves, and modifies the extracellular location of the matrix inhibitor

- tissue factor pathway inhibitor-2. *J Biol Chem* 2006; 281: 17827-17837.
4. Vrooman LA, Young KA. Ovarian matrix metalloproteinases are differentially regulated during the estrous cycle but not during short photoperiod induced regression in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Reprod Biol Endocrinol* 2010; 8: 79.
  5. Berkholtz CB, Shea LD, Woodruff TK. Extracellular matrix functions in follicle maturation. *Semin Reprod Med* 2006; 24: 262-269.
  6. Curry Jr TE, Osteen, KG. The matrix metalloproteinase system: Changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocr Rev* 2003; 24: 428-465.
  7. Russel DL, Doyle KM, Ochsner SA, Sandy JD, Richards JS. Processing and localization of ADAMTS-1 and proteolytic cleavage of versican during cumulus matrix expansion and ovulation. *J Biol Chem* 2003; 278: 42330-42339.
  8. Dunning KR, Lane M, Brown HM, et al. Altered composition of the cumulus-oocyte complex matrix during in vitro maturation of oocytes. *Hum Reprod* 2007; 22: 2842-2850.
  9. Mittaz L, Russell DL, Wilson T, et al. Adamts-1 is essential for the development and function of the urogenital system. *Biol Reprod* 2004; 70: 1096-1105.
  10. Goldman S, Shalev E. MMPs and TIMPs in ovarian physiology and pathophysiology. *Front Biosci* 2004; 9: 2474-2483.
  11. Hagglund AC, Basset P, Ny T. Stromelysin-3 is induced in mouse ovarian follicles undergoing hormonally controlled apoptosis, but this metalloproteinase is not required for follicular atresia. *Biol Reprod* 2001; 64: 457-463.
  12. Smith MF, Ricke WA, Bakke LJ, Dow MP, Smith GW. Ovarian tissue remodeling: Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 191: 45-56.
  13. Brown HM, Dunning KR, Robker RL, Pritchard M, Russell DL. Requirement for ADAMTS-1 in extracellular matrix remodeling during ovarian folliculogenesis and lymphangiogenesis. *Dev Biol* 2006; 300: 699-709.
  14. Risvanli A, Aydin M, Kaygusuzoğlu E, Timurkan H. The effect of thyroidectomy on sexual cycle and pregnancy rates in rats. *Turk J Vet Anim Sci* 2003; 27: 873-877.
  15. Gur FM, Aktas I. The ameliorative effects of thymoquinone and beta aminoisobutyric acid on streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy. *Tissue Cell* 2021; 71: 101582
  16. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.
  17. Gur FM, İkinci Keles A, Erol HS, et al. The effect of 900-MHz radiofrequency electromagnetic fields during the adolescence on the histological structure of rat testis and its androgen and estrogen receptors localization. *Int J Radiat Res* 2021; 19: 135-144.
  18. Aydin S, Kuloglu T, Ozercan MR, et al. Irisin immunohistochemistry in gastrointestinal system cancers. *Biotech Histochem* 2016; 91: 242-250.
  19. Taskiran N. Physiological role of kisspeptin in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Van Vet J* 2017; 28: 57-61.
  20. Aritonang TR, Rahayu S, Sirait LI, et al. The role of FSH, LH, estradiol and progesterone hormone on estrus cycle of female rats. *Int J Sci: Basic Appl Res* 2017; 35: 92-100.
  21. Park M, Park SH, Park H, et al. ADAMTS-1: A novel target gene of an estrogen-induced transcription factor, EGR1, critical for embryo implantation in the mouse uterus. *Cell Biosci* 2021; 11: 155.
  22. Espey LL, Yoshioka S, Russell DL, et al. Ovarian expression of a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs during ovulation in the gonadotropin-primed immature rat. *Biol Reprod* 2000; 62: 1090-1095.
  23. Namli Kalem M, Kalem Z, Açar Eser A, Demircan K. Matricellular proteins and related ADAMTS genes in infertility. *Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst* 201; 727: 138-149.
  24. Holmbeck K, Bianco P, Caterina J, et al. MT1-MMP-deficient mice develop dwarfism, osteopenia, arthritis, and connective tissue disease due to inadequate collagen turnover. *Cell* 1999; 99: 81-92.
  25. Yiğit AA, Büyük G, Kabakçı R. Dişi ratlarda üreme fizyolojisi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2019; 12: 163-167.