



Dişi Sığırlarda Anti Müllerian Hormon'un Bazı Reprodüktif Parametreler Üzerine Etkileri

Hasan MUTLU^{1, a}
Cengiz YILDIZ^{2, b}

¹ Doğu Akdeniz Tarımsal
Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğü,
Adana, TÜRKİYE

² Yalova Üniversitesi,
Sağlık Bilimleri Fakültesi,
Yalova, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0001-7479-7057

^b ORCID: 0000-0002-9166-8836

Geliş Tarihi : 05.03.2024
Kabul Tarihi : 25.03.2024

Yazışma Adresi Correspondence

Hasan MUTLU
Doğu Akdeniz Tarımsal
Araştırma Enstitüsü
Müdürlüğü
Adana – TÜRKİYE

hasanferitmutlu@hotmail.com

Anti Müllerian Hormon (AMH) dişilerde sağlıklı büyüyen foliküllerin granuloza hücreleri tarafından sentezlenir. Kan AMH düzeyleri dolaylı olarak, ovaryumlardaki morfolojik olarak sağlıklı folikül sayısı ve ovaryum rezervi hakkında bilgi vermektedir. Dişi çiftlik hayvanlarında dolaşımdaki AMH konsantrasyonunun, özellikle dişilerin üreme potansiyelini ortaya koyabilmek için güvenilir, değerlendirmesi kolay ve uygun maliyetli olan önemli bir belirteç olduğu ortaya koyulmuştur. Kan AMH düzeyi ile antral folikül sayısı (AFS), süperovulasyon yanıtı, in vitro embriyo üretimi (IVEP)-ovumun yerinden alınması (OPU) başarısı ve fenotipik olarak ovaryum büyüklüğü arasında güçlü pozitif ilişki belirlenmişken, AMH-fertilite arasındaki ilişki düzeyi zayıf kalmıştır. Dişi sığır reproduksiyonunda AMH çalışmaları yeni sayılabilecek bir alandır. Sürü yönetim stratejileri açısından önemli olan fertilite ve sürüden çıkarma kararları için kullanılan pratik uygulamalar konusu, hala önemli araştırmalar yapılmasını gerektirmesine rağmen sığırlarda reprodüktif gelişim için AMH testlerinin kullanılmasının ümit verici olduğu görülmektedir. Bu derlemede AMH testleri için alınan kan numunelerinin saklama koşulları ve dikkat edilmesi gereken hususlar (stabilite çalışmaları) ile dişi sığırlarda dolaşımdaki AMH düzeyi ile ilişkilendirilmiş bazı reprodüktif parametreler (antral folikül sayısı, süperovulasyon yanıtı ve IVEP, fertilite, verimli yaşam süresi ve ovaryum büyüklüğü) hakkında bilgiler verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Anti-Müllerian hormon stabilite, antral folikül sayısı, süperovulasyon yanıtı, fertilite, verimli yaşam süresi

Effects of Anti-Mullerian Hormone on Some Reproductive Parameters in Female Cattle

Anti-Müllerian Hormone (AMH) is synthesized by the granulosa cells of healthy growing follicles in females. Blood AMH levels indirectly provide information about the number of morphologically healthy follicles in the ovaries and ovarian reserve. Circulating AMH concentration in female farm animals has been shown to be an important marker that is reliable, easy to evaluate and cost-effective, especially to reveal the reproductive potential of females. While a strong positive relationship was determined between blood AMH level and antral follicle number (AFS), superovulation response, in vitro embryo production (IVEP)- removal of the ovum from its place (OPU) success and phenotypically ovarian size, the level of relationship between AMH and fertility remained weak. AMH studies in female cattle reproduction is a relatively new field. Although the issue of practical applications used for fertility and culling decisions, which are important for herd management strategies, still requires significant research, the use of AMH tests for reproductive development in cattle seems promising. In this review, information about the storage conditions and considerations of blood samples taken for AMH tests (stability studies) and some reproductive parameters associated with the level of circulating AMH in female cattle (antral follicle count, superovulation response and IVEP, fertility, fertile life span and ovarian size) were given.

Key Words: Anti-Müllerian hormone stability, antral follicle count, superovulation response, fertility, longevity

Giriş

Anti-Müllerian Hormon (AMH) ya da MIS (Müllerian Engelleme Madde), dönüştürücü büyüme faktörü-beta süper ailesinin bir üyesi olup, sadece gonadlardan eksprese edilen 140 kDa ağırlığında homodimerik glikoprotein yapısında olan bir hormondur (1, 2). Memelilerde birincil fizyolojik görevi embriyogenezde ortaya çıkmaktadır. Embriyonik yaşam sırasında, erkek cinsel farklılaşmasını etkileyen özel bir faktörün olduğu 1947 yılında Alfred Jost tarafından ilk defa ortaya koyulmuştur (3). Erkeklerde Y kromozomu üzerinde eksprese edilen SRY geni, testis farklılaşmasından sorumludur ve Sertoli hücreleri tarafından üretilen AMH'nin etkisi altında Müllerian kanalları gerilerken, Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteronun etkisi altında Wolffian kanalları gelişimine devam etmektedir. Dişi fetüslerde AMH'nin ve androjenlerin yokluğu, Müllerian kanallarının gelişimine sebep olurken Wolf kanallarının da gerilemesine neden olmakta ve bu sayede dişi genital organlar oluşabilmektedir (4, 5). Erkeklerde AMH seviyeleri, doğumdan puberteye kadar yüksek kalmakta daha sonra azalmakta, yetişkin erkeklerde ise çok düşük olmaktadır (6). Vigier ve ark. (7), AMH'nin kadınlarda gebeliğin 36. haftasından menopoza kadar geçen sürede salgılandığını bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarla kadınlarda olduğu gibi sığır ve koyunların sağlıklı büyüyen ovaryum foliküllerinin granuloza hücrelerinden de AMH'nin gen düzeyinde eksprese edildiği belirlenmiştir (8, 9). AMH'nin dişilerde iki ana fonksiyonel rolü olduğu düşünülmektedir: 1) Primordiyal folikül havuzundaki foliküllerin

büyümesini baskılayarak ovaryum folikül rezervinin erken tükenmesinin önlenmesi, 2) Preantral ve küçük antral foliküllerde FSH'ya duyarlılığı azaltarak foliküler gelişimin düzenlenmesidir (10). AMH ekspresyonu primordiyal foliküllerin folikül havuzuna dahil olması için ilk uyarıldığı anda başlamakta, preantral ve küçük antral folikül aşamasına gelindiğinde ise en yüksek seviyelere ulaşmaktadır. AMH ekspresyonunun dominant folikülün seçilimi sonrası preovulatör aşamaya doğru azaldığı ve atretik foliküllerde de bulunmadığı bildirilmektedir (11-13). Kanda tespit edilebilen AMH düzeylerine, sadece büyüyen sağlıklı foliküller tarafından üretilen AMH'nin katkısı olmasından dolayı AMH düzeyleri dolaylı olarak ovaryumlardaki toplam morfolojik olarak sağlıklı folikül sayısını ve ovaryum rezervini yansıtmaktadır (9). 1990'larda kadınlar için AMH testleri geliştirilmiş ve serum AMH seviyeleri hızlı bir şekilde ovaryum rezervinin sayısal bir belirteci haline gelmiştir (14). Daha sonra dişi çiftlik hayvanlarında yapılan çalışmalarla da kan AMH düzeylerinin, özellikle dişinin üreme potansiyelini ortaya koyabilmek için güvenilir, değerlendirmesi kolay, uygun maliyetli ve oldukça ihtiyaç duyulan bir belirteç olduğu ortaya konulmuştur (10).

Bu derlemede AMH testleri için yapılmış stabilizasyon çalışmaları ile dişi sığırlarda dolaşımdaki AMH düzeylerinin ilişkilendirildiği önemli bazı reprodüktif özellikler (antral folikül sayısı, süperovulasyon yanıtı ve IVEP, fertilité, verimli yaşam süresi, ovaryum büyüklüğü) hakkında bilgi verilmektedir.

AMH Testleri için Önemli Stabilizasyon Noktaları

AMH testleri için kan plazması ya da kan serumu kullanılabilir. AMH test sonuçları üzerinde plazmadaki antikoagülanın tipi, tam kan numunelerinin kan hücrelerinden plazma ya da serum olarak ayrılması ya da ayırmadan saklamanın ve saklama sıcaklığının etkileri olmaktadır.

Heparinli vakum tüplerinde farklı koşullarda dondurulmadan saklanan kan örneklerinin, plazmada ölçülen AMH düzeyi üzerine etkisi: Dondurulmamış kan örneklerinin santrifüj edilmeden 20°C'de 8 saat ve 4°C'de 24 saat bekletilmesinin, plazma AMH konsantrasyonlarında 0. saatteki ölçüme göre önemli artışa neden olduğu bildirilmektedir. Kan ve plazma örneklerinde iki kez yapılan donma-eritme döngüsünün plazma AMH düzeyleri üzerine hiçbir etkisinin olmadığı, fakat plazma numunelerinin daha fazla tekrarlanan donma ve çözülme döngülerinin plazma AMH düzeylerinde ortalama 1.2 ila 1.7 kat artışa neden olduğu, bu artışın üç donma-çözülme döngüsünden sonra önemli ve numuneler arasında oldukça değişken olduğu bildirilmektedir (15). Bu sonuçlar, plazma örneklerinde AMH değerlerini doğru bir şekilde ölçmek için üç veya daha fazla donma ve çözülme döngüsünden kaçınılması gerektiğini göstermektedir.

Kan örnekleme için kullanılan vakum tüplerinde bulunan antikoagülanın etkisi: Heparin veya EDTA'lı kan ve plazma örnekleri depolama için

hemen -20°C'de dondurulduğunda ve tahlilden hemen önce çözülürldüğünde EDTA içeren kan ve plazma örneklerinin, Heparin içeren kan ve plazma örneklerinden daha yüksek AMH düzeylerine sahip olduğu, bununla birlikte Heparin ve EDTA'lı AMH düzeyinin yüksek oranda ilişkili olduğu bildirilmektedir. Ayrıca Heparin içeren vakum tüplerindeki plazma örneklerine EDTA eklenmesinin AMH düzeylerinde 1.5 kat artışa neden olduğu, EDTA'lı ve EDTA'sız plazmadaki AMH düzeylerinin de hala yüksek oranda ilişkili olduğu bildirilmiştir. Tüm örnekleme koşullarındaki AMH konsantrasyonlarının yüksek oranda ilişkili olması nedeniyle AMH ölçümlerinin Heparin veya EDTA varlığında tam kan veya plazma ile doğru bir şekilde yapılabileceği, bununla birlikte dondurulmamış kan örneklerinin depolanmasından kaçınılması gerektiği çünkü depolama sırasında AMH konsantrasyonlarında gözlenen zamana ve sıcaklığa bağlı artışların AMH test sonuçlarında hatalara yol açabileceği ifade edilmektedir (15).

Fleming ve ark. (16) tam kanın saklanmasında sıcaklığın ve sürenin etkisini: Deney örneklerini santrifüleme ve testten önce oda ısısında (20°C) 20, 44 ve 90 saat bekletmenin AMH sonuçlarında kademeli bir artışa neden olduğunu, 20. saatte orta düzeyde (%15) bir artış olurken 90. saatteki artışın (%31) klinik olarak önemli olabilecek düzeyde olduğunu, tam kan örneğinin serum ayrılmadan önce 4°C'de 90 saat saklanması sonrası ise AMH konsantrasyonunda orta düzeyli (yaklaşık %10) bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Serum ve kan hücrelerinin fiziksel olarak ayrılmasının etkisini de serum örnekleri ayrıldıktan ve 20°C'de 7 gün bekletildikten sonraki ölçümde AMH düzeylerindeki değişimin (%1) önemsiz düzeyde kaldığı belirtilmiştir. Sonuç olarak: Tam kanın etkili bir şekilde kısa süreli (24 saat) depolanabileceğinin kabul edilebilir olduğu ancak serumun damardan alındıktan sonraki birkaç saat içinde kan hücrelerinden ayrılmasının ideal bir durum olduğu ifade edilmiştir.

Gassner ve Jung (17) AMH örneklerinin stabilitesini, kan alındıktan sonra 2 saat içinde serum yada plazmanın çıkarılması sonrası, AMH sonuçları üzerine test örneklerinin saklama sıcaklığının ve analiz süresinin etkisini araştırdıkları çalışmalarında, AMH sonuçlarının Li-Heparin plazma ve serumu 20-25°C ve 2-8°C'de 7 güne kadar saklamanın taze numunelere kıyasla önemli depolama sorunu göstermediğini, bu nedenle ayrılmış serum ve Li-Heparin örneklerinin 20-25°C'de kolayca saklanabileceği veya soğutmaya gerek kalmadan uzak bir test laboratuvarına gönderilebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca üç donma-çözülme döngüsüne kadar test edilen AMH sonuçlarının sağlam olduğu ve numunelerin -20°C ve -80°C'de 9 aya kadar uzun süreli depolanmasının ölçülen AMH değerleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı ifade edilmiştir.

Vrzáková ve ark. (18) çalışmalarında kullandıkları serum ve plazma örneklerini: Analiz öncesi tekrarlı çözülme, farklı sıcaklık ve depolama süreleri gibi çeşitli koşullarda test etmişlerdir. Sonuç olarak, tüm serum numunelerinin tekrarlı donma ve çözülme sırasında nispeten yüksek bir AMH stabilitesi gösterdiğini fakat

plazma örneklerindeki AMH konsantrasyonlarında her dondurma-çözdürme döngüsünden sonra bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma AMH düzeylerinin çeşitli stres koşulları altında stabil kalabileceğini göstermiştir. Fakat uygun saklama koşullarına dikkat edilmediğinde örnekteki AMH konsantrasyonlarının azalacağı, yanlış ölçüm sonucu daha düşük bir değer ortaya çıkabileceği de bildirilmiştir.

AMH düzeyinin tespiti için kan örnekleri alındıktan hemen sonra (yaklaşık 2 saat içinde) plazma ya da serumu çıkarılmalıdır. Test örneği olarak EDTA'lı plazmanın tercih edilmesi halinde sonuçların yüksek çıkabileceği hatırlanmalıdır. AMH test örneklerinin (kan serumu ya da Li-Heparin plazma) kısa süreli (7 güne kadar) olarak ortam ya da buzdolabı ısısında, uzun süreli olarak da -20°C ve -80°C saklanabileceği ayrıca tekrarlı dondurma-çözdürme döngülerinden kaçınılması gerektiği ifade edilebilir.

AMH ile Antral Folikül Sayıları (AFS) Arası İlişki

Yapılan çalışmalar *Bos taurus*, *Bos indicus* ve *Bos taurus-indicus* melezi ineklerde AFS'nin inekler arasında oldukça değişken olduğu ama aynı hayvanlar içinde çok tutarlı bir tekrarlanabilirliğe sahip parametre olduğunu göstermiştir (19). Bu yönüyle dişiler ovaryumların ultrasonografik muayenesi sonrası belirlenen antral folikül sayısına göre düşük, orta veya yüksek AFS'li olarak sınıflandırılabilir (20, 21). Aynı zamanda farklı sığır ırkları arasında AFS ve AMH eşik değerlerinin farklı olduğu görülmektedir. Örneğin yapılan bir çalışma ile *Bos indicus* düvelerin *Bos taurus* düvelerle karşılaştırıldığında daha büyük AFS ve AMH konsantrasyonuna sahip olduğu bildirilmiştir (22). AMH çoğunlukla erken antral foliküller tarafından sentezlenmekte ve dişilerde reprodüktif siklusta foliküller dalga havuzuna giren primordiyal foliküllerin aktivasyonunu engelleyen mekanizmaya da dahil olmaktadır (22). Silva-Santos ve ark. (23) primordiyal foliküller popülasyonunun *Bos indicus*'larda *Bos taurus*'lara göre daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu durum, *Bos indicus* düvelerdeki yüksek plazma AMH konsantrasyonunun daha düşük foliküler atrezi ile sonuçlanmış olabileceği şeklinde açıklanmıştır (24).

Tablo 1. Laktasyondaki Holştayn ineklerde kan AMH düzeylerine göre süperovulasyon yanıtı ve flush sonrası elde edilen yapıların değerleri (32)

Değişkenler	AMH Çeyrek Dilimleri				P Değeri
	Q1	Q2	Q3	Q4	
Hayvan sayısı	18	18	18	18	-
AMH (pg/mL)	44.9±6.9	114.1±3.3	155.6±3.8	243.1±14.3	<0.01
KL sayısı	12.0±1.5	14.7±2.0	17.2±1.2	25.6±2.5	<0.01
Toplam oosit-embriyo sayısı	5.0±1.2	5.5±1.3	7.2±1.2	14.0±2.3	<0.01
Fertilize yapı sayısı	3.9±0.9	4.3±1.2	5.8±1.2	10.0±1.8	0.02
Transfer edilebilir embriyo sayısı	3.1±0.8	3.8±1.2	4.4±1.1	7.2±1.4	0.05
Dondurulabilir embriyo sayısı	2.9±0.8	3.7±1.2	3.9±1.1	6.6±1.2	0.06

KL: Korpus Luteum; AMH: Anti Müllerian Hormon

Antral folikül sayıları ile serum AMH konsantrasyonu arasında pozitif bir ilişkinin varlığı yapılan birçok çalışma ile ortaya koyulmuştur. Fakat bu çalışmalarda ilişkinin derecesi; düşük (25), orta (26) ve yüksek (20, 27, 28) olarak farklı bulunmuştur. Guerra ve ark. (29) yüksek verimli sığır genotipi olan üçlü allel gen taşıyıcılarında ovulasyon oranı, antral folikül sayısı ve dolaşımdaki AMH konsantrasyon oranları arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, AFS ile AMH arasındaki ilişki, üçlü allel gen taşımayan grupta yüksek ve üçlü allel gen taşıyan gruptaki ineklerde ise orta düzeyde tespit edilmiştir.

Ovaryumların ultrasonografik muayeneleri sonrası tespit edilen AFS, östrüs siklus gününden, hayvanın reprodüktif döneminden ve kullanılan ultrasonografi cihazının özellikleriyle uygulayıcının tecrübesinden etkilenebilmektedir. Bu gibi nedenlerle AFS yerine AMH değerlerinin referans alınmasının daha doğru olacağı söylenebilir.

AMH ile Süperovulasyon Yanıtı ve IVEP (In Vitro Embriyo Üretimi)-OPU (Ovumun Yerinden Alınması) Performansı Arasındaki İlişki

Dişi sığırlarda yapılan birçok çalışma, dolaşımdaki AMH düzeyi ile ovaryumlardaki AFS, süperovulasyon yanıtı ve IVEP (In Vitro Embriyo Üretimi) performansının önceden tahmin edilebilirliğini ortaya koymuştur (30-33).

Souza ve ark. (32) süperovulasyon cevabı ile AMH konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, 72 Holştayn ineği kan AMH düzeylerine göre dört gruba ayırmışlar (Tablo 1); (Q1= 0.0-82.6 pg/ml; Q2= 91.1-132.5 pg/mL; Q3= 135.3-183.8 pg/mL; Q4= 184.4-374.3 pg/mL) Q1 ile Q4 grubundaki ineklerin AMH düzeyleri arasındaki farkın yaklaşık 5 kat olduğu ve flush anında tespit edilen korpus luteum (KL) sayısı bakımından (sırasıyla 12 ve 25.6 KL) 2 kat farklılık olduğu bildirilmiştir. Q4 ile Q1 grupları arasındaki toplam kazanılan oosit-embriyo sayı farkının da yaklaşık 3 kat olduğu belirtilmiştir. Ayrıca süperovulasyon yanıtı olarak, 15 KL'den fazla üretebilen donör inekler için AMH konsantrasyonu eşik değerinin 123.5 pg/mL olarak belirlendiği ifade edilmiştir.

Center ve ark. (34), süperovulasyon öncesi 79 etçi sığıri kan AMH seviyelerine göre, (Q1: 0.013 - 0.168 ng/mL; Q2: 0.169 - 0.263 ng/mL; Q3: 0.264 - 0.363 ng/mL; Q4: 0.364 - 0.898 ng/mL) en düşük Q1 ve en yüksek Q4 olmak üzere çeyrek dilimlere ayırmışlardır. Süperovulasyona başlama zamanında, Q4'deki donör ineklerin ovaryumlarındaki AFS'nin Q1 ve Q2 grubundakilerden önemli düzeyde, Q3'dekilerden ise orta düzeyde fazla olduğu ve embriyo toplama zamanında tespit edilen KL sayılarının ise Q3 ve Q4'deki ineklerde Q1 grubunda olanlara göre önemli düzeyde, Q2'dekilerle orta düzeyde daha fazla sayıda KL belirlenmiştir. Ayrıca Q4 grubunda bulunan donör ineklerden elde edilen ortalama embriyo sayılarının Q1 ve Q2'dekilerden anlamlı düzeyde fazla olduğu ama Q3'dekilerle benzer bulunduğunu ifade etmişlerdir. Sonuç olarak kan AMH düzeyi ile antral folikül sayısı, ovulasyon oranı ve elde edilen embriyo sayıları arasında pozitif ilişki bulunduğunu, AMH ölçümlerinin ve AFS'nin sonraki süperovulasyon yanıtını tahmin etmede kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Jaques ve ark. (35), çeşitli ırk ve yaşta sığırları kullandıkları ve AMH konsantrasyonu ile toplam oosit-embriyo üretimi arasındaki ilişkiyi araştırdıkları embriyo transferi çalışmalarında yaşın, toplam oosit-embriyo üretimi üzerine önemli bir etkiye sahip olduğunu, ırkın ise önemli bir etkisinin görülmediğini ve AMH konsantrasyonu ile toplam oosit-embriyo üretimi arasında anlamlı düzeyde ilişki olduğunu (AMH düzeyi ne kadar büyüksün, flush başına oosit-embriyo verimi o kadar fazla) bildirmişlerdir.

Macias ve ark. (36), Brahman ırkı düve ve inekleri kan AMH düzeylerine göre (100-200, 200-300, 300-450 pg/mL) gruplandırdıkları çalışmalarında, yüksek AMH (>300 pg/mL) düzeyine sahip düve ve ineklerde, süperovulasyon sonrası elde edilen KL ve transfer edilebilir embriyo sayılarının daha fazla olduğunu ve bu embriyoların daha yüksek gelişimsel sağ kalıma ve gebelik oluşturma potansiyeline sahip olduklarını bildirmişlerdir.

De Marchi ve ark. (37), Wagyu ırkı ineklerde serum AMH düzeyi ile oosit kazanımı ve IVF embriyoların blastosist geliştirme oranlarının ilişkilendirildiği çalışmada, AMH düzeyi ile oosit ve embriyo verimi arasında pozitif bir ilişki olduğunu, düşük (11.06±3.01) ve yüksek (20.75±4.46) oosit elde edilen hayvanların

ortalama AMH düzeyleri arasında önemli farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Yüksek antral folikül sayısının in vitro embriyo üretimine olan faydası, oositlerin toplanması ve IVEP'nin tamamlanmasıyla görülebilir. Yüksek (>10 folikül) ve düşük (<10 folikül) AFS'li sütçü ineklerden elde edilen ovaryumların değerlendirildiği bir çalışmada, yüksek AFS'li grupta düşük olana göre daha az apoptotik hücre sayıları ile birlikte daha fazla blastosist ve hatched blastosist gelişim oranları gözlenmiştir (38). Holştayn ineklerde yapılan başka bir çalışmada, yüksek (>25 folikül) ve düşük (<25 folikül) AFS'li olan ineklerin ovaryumlarından elde edilen uygun oosit ve granuloza hücre sayılarının yüksek AFS'li grupta arttığı tespit edilmiştir (39). Nelore ineklerde OPU performansı ve IVEP'in AFS kategorilerine göre karşılaştırılmasında, yüksek AFS'li (≥25 folikül) donör ineklerden daha fazla oosit ve embriyo üretildiği ve düşük AFS'li (≤15 folikül) donörlerden oositlerin toplandığı zamana kıyasla daha fazla gebelik elde edildiği bildirilmiştir (Tablo 2) (33). Tüm bu bulgular antral folikül sayısı yüksek donörlerden daha fazla oosit elde edilebileceğini ve bu oositlerin blastosist aşamasına ulaşmak için daha büyük gelişimsel yeterliliğe sahip olduklarını göstermektedir (40).

Rozner ve ark. (41) Holştayn inekleri kan AMH seviyelerine göre Düşük (<100 pg/mL), normal (100-400 pg/mL) ve yüksek (>400 pg/mL) kategorilere ayırdıkları çalışmalarında, OPU sonrası AMH düzeyi yüksek olan hayvanlardan normal ve düşük gruba göre önemli derecede fazla sayıda oosit kazanımı elde edildiğini (sırasıyla; 13.8±9.2, 9.2±5.2 ve 5.6±3.9), flush sonrası elde edilen embriyo kazanımlarının da yüksek AMH grubunda, normal ve düşük AMH gruplarına göre önemli düzeyde fazla olduğunu (sırasıyla; 9.3±3.1, 5.7±3.4 ve 4.5±2) bildirmişlerdir.

Bos indicus (Nelore) ve Bos taurus (Holştayn) düvelerde antral folikül sayısı belirleyicisi olarak AMH'nin kullanıldığı bir çalışmada, AFS popülasyonunun Nelore düvelerde (18-85) Holştayn düvelere (8-51) göre daha yüksek olduğu, her iki genetik gruptaki yüksek AFS'li olanların daha yüksek AMH konsantrasyonuna da sahip olduğu ve Nelore düvelerin Holştayn düvelere göre daha fazla plazma AMH konsantrasyonuna ve daha büyük ovaryum antral folikül rezervine de sahip olduğu bildirilmiştir (Tablo 3) (22).

Tablo 2. Nelore ineklerin, yüksek AFS (≥25 folikül sayısı) ve düşük AFS'li (≤15 folikül sayısı) OPU performans değerleri (33)

Değişkenler	Düşük AFS (5-15 folikül)	Yüksek AFS (25-45 folikül)	P Değeri
Hayvanlar (n)	8	8	-
Antral Folikül Sayısı	10.0 ± 0.6	28.7 ± 1.2	< 0.0001
Aspire edilen oosit/OPU	7.9 ± 0.6	30.1 ± 2.2	< 0.0001
Uygun oosit/OPU	5.9 ± 0.4	24.6 ± 1.8	< 0.0001
Yarıklanmış embriyo/OPU	4.5 ± 0.3	19.8 ± 1.4	< 0.0001
Blastosist/OPU	1.7 ± 0.2	10.3 ± 0.9	0.003
Blastosist/oosit (%)	28.8 ± 3.9	41.9 ± 2.8	0.01

OPU: Ovum Pick Up

Tablo 3. Holştayn ve Nelore düvelerde ortalama antral folikül sayıları ve plazma AMH konsantrasyon değerleri (22)

AFS Grupları	Holştayn		Nelore		P Değeri	
	Düşük AFS	Yüksek AFS	Düşük AFS	Yüksek AFS	Genetik Grup	AFS Grupları
Düve sayısı	8	7	8	7	-	-
Folikül sayısı	13.4±1.40	34.3±3.12	28.4±2.15	48.1±2.33	<0.0001	<0.0001
Plazma AMH (ng/mL)	0.06±0.02	0.57±0.26	0.78±0.16	1.20±0.16	<0.0001	0.001

AFS: Antral Folikül Sayısı; AMH: Anti Müllerian Hormon

Yukarıda bahsi geçen çalışmaların aksine Çizmeci ve ark. (42), Holştayn ırkı düvelerde, OPU yöntemiyle oosit kazanımı ile kan AMH konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi belirlemek için yaptıkları çalışmada, Holştayn düveler için yüksek sayılabilecek ortalama AMH konsantrasyonuna (563.35 pg/mL) sahip donörlerde yapılan haftalık OPU uygulamalarından toplanan uygun ve kaliteli oosit sayısını, AMH konsantrasyonunun etkilemediğini bildirmişlerdir. AMH verileriyle beklenen ilişkinin kurulamamasını da çalışmada yapılan OPU uygulamalarının siklusun bilinmeyen günlerinde yapılmış olmasından kaynaklanmış olabileceği şeklinde ifade edilmiştir.

Bu konuda yapılan çalışmalar (32, 34-37, 41) toplu olarak değerlendirildiğinde, dolaşımdaki AMH düzeyinin süperovulasyon yanıtı, oosit ve embriyo üretimi ile yüksek düzeyde ilişkili olduğu ve AMH konsantrasyon değerlerinin, çoklu ovulasyon ve embriyo transferi (MOET) ve OPU başarısının artırılması için donör seçiminde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

AMH ile Fertilite Arasındaki İlişki

Dolaşımdaki AMH konsantrasyonu ile ovaryum folikül rezervi, süperovulasyon yanıtı, in vivo ve in vitro embriyo üretimi arasında kurulan pozitif ilişkinin (24, 30-32, 43), tohumlama sonrası elde edilen gebelik sonuçları ile kurulamadığı görülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Ribeiro ve ark. (31) östrüs senkronizasyon programlarının AMH ile fertilite arasındaki olası ilişkiyi geçersiz kılacağını iddia etmişler bu yüzden fertiliteyi tahmin etmede AMH'nin kullanımının hayvanların östrüste ya da sabit zamanlı suni tohumlama programları sonrası tohumlanmalarına bağlı olarak değişebileceğini ayrıca bu ilişkinin kullanılan sığır ırkına göre de değişebileceğini ifade etmişlerdir.

Bos indicus ırkı sığırların kullanıldığı bir sabit zamanlı suni tohumlama programı sonrası, daha fazla AFS'ye sahip (muhtemel daha fazla AMH) ineklerin daha düşük AFS'li olanlara göre daha düşük gebe kalma sonuçlarına sahip olduğu bildirilmiştir (44, 45). Ayrıca Jimenez – Krassel ve ark. (46) yüksek AFS'li Bos taurus dişilerin düşük AFS'li olanlara göre daha düşük fertilite ve daha kısa reprodüktif yaşama sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Yukarıdaki çalışmaların aksine Mossa ve ark. (30) düşük AFS'li sütçü ineklerin orta ve yüksek AFS'li olanlara göre ilk tohumlamada daha düşük gebe kalma oranına, gebelik için daha fazla tohumlama sayısına ve daha uzun buzağılama aralığına sahip

olduklarını ifade etmişlerdir. Benzer şekilde, Ribeiro ve ark. (31) yüksek AMH'lı sütçü ineklerin gebeliğin 30-65. günleri arasında daha yüksek gebelik oranlarına ve daha düşük gebelik kaybı insidansına sahip olduklarını bildirmişlerdir. Sabuncu ve ark. (47) Holştayn düveler (n=20), genç inekler (n=20) ve yaşlı inekler (n=20)'i kullandıkları ve bunların sabit zamanlı suni tohumlamaları sonrası gebelik oranları ve gebelik devamlılıklarını AMH konsantrasyonlarıyla ilişkilendirdikleri çalışmalarında, tohumlamadan sonraki 20. günde, gebe hayvanlarda 0. gün AMH konsantrasyonlarının gebe olmayan hayvanlara göre tüm gruplarda daha yüksek olduğu, ayrıca tohumlamadan sonraki 60. günde gebe hayvanlardaki 0.gün ortalama AMH konsantrasyonlarının 20. ve 60. gün arası gebelik kaybı yaşananlarla 20. gün gebe olmayanlar birlikte değerlendirildiğinde daha yüksek olduğu bildirilmiş ve AMH analizlerinin bir sürüdeki hayvanların reprodüktif verimliliği hakkında değerli bilgiler sağlayabileceği ifade edilmiştir.

Batista ve ark. (48) sabit zamanlı suni tohumlama programına alınmış Nelore ırkı düvelerde (n=289) yüksek AMH'ya sahip düvelerin düşük AMH'lı düvelerle karşılaştırıldığında daha fazla antral folikül sayısına, ovulasyon zamanına yakın daha küçük bir dominant foliküle ve sabit zamanlı suni tohumlamaya yanıt olarak daha düşük ovulasyon oranına sahip olduklarını bildirmişler, AMH ve gebelik sonuçlarının çeyrek dilimlik (AMH düzeylerine göre oluşturulan dört grup) bir kalıba sahip olmasına rağmen AMH'nin fertilite ile anlamlı bir ilişkisinin olmadığını ifade etmişlerdir. Aynı şekilde Holştayn ırkı düve ve ineklerin kullanıldığı bir çalışmada tohumlama sonrası gebelik oranları ve serum AMH konsantrasyonları arasında ilişki bulunmadığı bildirilmiştir (49).

Akbarinejad ve ark. (50) Holştayn ırkı sütçü ineklerde serum AMH konsantrasyonu ile fertilite arasında ikinci dereceden ilişkinin varlığını ortaya koydukları çalışmada, Holştayn sütçü inekleri AMH konsantrasyonlarına göre; en az (Q1; n = 43), orta derecede daha az (Q2; n = 43), orta derecede daha büyük (Q3; n = 43) ve en yüksek (Q4; n = 43) olmak üzere çeyrek dilimlere ayırmışlar ve üreme değişkenleri ilgili AMH çeyrekleri arasında karşılaştırılmıştır. Çalışmada postpartum ilk tohumlama 50. günden sonra ve östrüs başlangıcından 12 saat sonra yapılmış ve sonuç olarak orta düzey AMH konsantrasyonuna sahip (Q2 ve Q3) ineklerin fertilitésinin optimal olduğu, en az (Q1) ve en yüksek (Q4) çeyreklik dilimde olanların fertilitésinin ise daha düşük olduğu bildirilmiştir.

Sunulan bu zit bulgular, sığırları fertilité açısından kategorize etmek için AMH'nin olası kullanımı hakkında sonuçlar çıkarmayı zorlaştırmaktadır. Fakat yapılan çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, Akbarinejad ve ark. (50) çalışma sonuçlarının (orta düzey AMH konsantrasyonuna sahip ineklerin fertilitésinin optimal olduğu, en az ve en yüksek çeyreklik dilimde olanların fertilitésinin daha düşük olduğu) AMH ile fertilité arasındaki ilişkiyi açıklamakta kullanılabileceği değerlendirilmektedir.

AMH ile Verimli Yaşam Süresi (Longevity) Arasındaki İlişki

Verimli yaşam süresi, ilk buzağılama ile sürüden çıkarma arasındaki dönem olarak ifade edilmektedir. Holştayn ırkı düvelerde (n= 281) yapılan 4 yılı kapsayan bir çalışmada, düvelerin ilk tohumlama, gebe kalma ve buzağılamadaki yaşlarının farklı AMH grupları (Q1: 19 pg/ml; Q2: 41.8 pg/mL; Q3: 68.9 pg/mL; Q4: 153.2 pg/mL) arasında farklılık göstermediğini, başlanan laktasyon sayısı tüm AMH grupları arasında benzer bulunmasına rağmen Q1 grubundaki ineklerin Q2 ve Q3'dekilere göre laktasyonu daha az sayıda tamamladıkları bildirilmiştir. Çalışma sonunda Q1, Q2, Q3 ve Q4 grubundaki ineklerin sürüde kalma oranlarının sırayla; %24, %37, %43 ve %32 olarak belirlendiği ve sonuç olarak Q1 grubunda diğer üç gruba (Q2, Q3 ve Q4) göre sürüden çıkarma olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Genç yetişkin Holştayn düvelerde yapılan tek bir AMH düzeyi ölçümü ile gelecekteki sürü uzun ömürlülüğünün tahmin edilebilir olduğunun gösterildiği ifade edilmiştir (43).

Schwarzmann ve ark. (25) çeşitli ırklardan sütçü ineklerin (n=513) kullanıldığı ve AFS ve AMH düzeyi üzerine postpartum hastalıkların etkisinin değerlendirildiği çalışmada, sütçü ineklerde AFS ve AMH konsantrasyonu üzerine postpartum hastalıkların bir etkisinin olmadığını, birden çok doğum yapmış yüksek AMH düzeyine sahip ineklerin düşük AMH düzeyli olanlara göre daha kısa buzağılama- tohumlama ve yeniden gebe kalma aralıklarına sahip olduğunu ama düşük AMH konsantrasyonlu ineklere göre daha düşük süt verimine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca kan AMH konsantrasyonunun verimli yaşam süresinin uygun bir fenotipik belirteci olarak kullanılabileceğini ifade eden başka raporlarda bulunmaktadır (31, 51, 52). Sonuç olarak, AMH düzeyi ile verimli yaşam süresi arasındaki ilişkinin varlığı, AMH ile fertilité arasında kurulan ilişkiye benzemektedir. AMH düzeylerine göre oluşturulan çeyrek gruplar arasında orta düzeye sahip olan düvelerin, en düşük ve en yüksek AMH grubundakilere göre daha uzun sürüde kaldığı ifade edilebilir.

Kaynaklar

1. Knight PG, Glister C. TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 2006; 132(2): 191-206.

Ovaryum Büyüklüğü ile AMH Konsantrasyonu Arasındaki İlişki

İneklerde yapılan çalışmalar, ovaryum ultrasonografi bulgularıyla yüksek AFS'li olarak tespit edilen hayvanların, düşük AFS'li olanlara göre daha yüksek fertilité, daha kısa açık gün periyodu ve süperovulasyon uygulamalarına daha iyi yanıt gibi daha yüksek reprodüktif performansla sahip olduklarını göstermektedir (30, 53). Sütçü düvelerde serum AMH düzeyleri, ovaryumların büyüklüğü (her iki taraftaki ovaryumların toplam alanı) ve ovaryum rezervi arasında kesin bir ilişkinin olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (52, 54, 55).

Widodo ve ark. (56) Holştayn ırkı ineklerde, bireysel olarak ovaryumların toplam büyüklüğü (foliküller ve lüteal boyut dahil) ile AMH seviyeleri arasında önemli bir ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır. Ovaryum büyüklüğü ile AMH konsantrasyonu arasında kurulan bu önemli ilişki sayesinde ovaryumların ultrasonografi gözlemleri ile AMH düzeylerindeki farklılıkların tahmin edilmesi, ineklerin ovaryum aktivitesi ve süperovulasyon performansının tahmin edilmesine yardımcı olabileceği ifade edilmiştir.

Macías-Andrade ve ark. (57) Brahman ırkı düve ve ineklerde, yaş ile AFS arasında negatif bir ilişki olduğunu, yaş arttıkça antral folikül sayısının azaldığını, aynı zamanda AMH seviyelerinin 18-24 ay aralığında en yüksek düzeye çıktığını ama yaş yükseldikçe AMH düzeylerinin de azaldığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak ovaryum büyüklüğü, AFS ve AMH konsantrasyonu arasında var olan güçlü ilişki nedeniyle her üç değer birbirinin yerine ve bir diğerini tahmin etmede kullanılabileceği söylenebilir.

Sonuç

Dişi sığırlarda yapılan AMH testlerinin, çoklu ovulasyon ve embriyo transferi ve in vitro embriyo üretiminin ayrılmaz ve gerekli bir parçası olduğu güçlü bir şekilde ortaya konulmuştur. Kan AMH düzeyi ile ovaryum folikül rezervi, ovaryum büyüklüğü, süperovulasyon yanıtı ve OPU performansı arasında kurulan güçlü pozitif ilişki fertilité ile kurulamamış zayıf kalmıştır. Bu duruma sebep olarak, çiftliklerde fertilitéyi etkileyen daha güçlü faktörlerin (sürü yönetim uygulamaları) varlığından kaynaklanmış olabileceği değerlendirilmektedir. AMH çalışmaları, dişi sığır reprodüksiyonunda yeni sayılabilecek bir alandır. Sürü yönetim stratejileri açısından önemli olan fertilité ve sürüden çıkarma kararları için kullanılan pratik uygulamalar konusu, hala önemli araştırmalar yapılmasını gerektirmesine rağmen sığırlarda reprodüktif gelişim için AMH testlerinin kullanılmasının ümit verici olduğu görülmektedir.

2. Field SL, Dasgupta T, Cummings M, Orsi NM. Cytokines in ovarian folliculogenesis, oocyte maturation and luteinisation. *Molecular reproduction and Development* 2014; 81(4): 284-314.

3. Josso N. The builder of modern sex differentiation. *Sexual Development* 2008; 2(2): 55-63.
4. Rudnicka E, Kunicki M, Calik-Ksepka A, et al. Anti-müllerian hormone in pathogenesis, diagnostic and treatment of PCOS. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 12507.
5. Erel CT, Ozcivit IB. Anti-Müllerian hormone and ovarian aging. *Gynecol Endocrinol* 2021; 37: 867-868.
6. Broekmans FJ, Visser JA, Laven JSE, et al. Anti-Müllerian hormone and ovarian dysfunction. *Trends Endocrinol Metab* 2008; 19: 340-347.
7. Vigier B, Picard JY, Tran D, Legeai L, Josso N. Production of anti-Müllerian hormone: Another homology between Sertoli and granulosa cells. *Endocrinology* 1984; 114(4): 1315-1320.
8. Takahashi M, Hayashi M, Manganaro TF, Donahoe PK. The ontogeny of mullerian inhibiting substance in granulosa cells of the bovine ovarian follicle. *Biology of Reproduction* 1986; 35(2): 447-453.
9. La Marca A, Volpe A. Anti-Müllerian hormone (AMH) in female reproduction: Is measurement of circulating AMH a useful tool? *Clinical Endocrinology* 2006; 64(6): 603-610.
10. Mossa F, Evans ACO. The ovarian follicular reserve—implications for fertility in ruminants. *Animal* 2023; 17: 100744.
11. Weenen C, Laven JS, Von Bergh AR, et al. Anti-Müllerian hormone expression pattern in the human ovary: Potential implications for initial and cyclic follicle recruitment. *Molecular Human Reproduction* 2004;10(2): 77-83.
12. Monniaux D, Clemente ND, Touzé JL, et al. Intrafollicular steroids and anti-Müllerian hormone during normal and cystic ovarian follicular development in the cow. *Biology of Reproduction* 2008; 79(2): 387-396.
13. Veiga-Lopez A, Ye W, Padmanabhan V. Developmental programming: prenatal testosterone excess disrupts anti-Müllerian hormone expression in preantral and antral follicles. *Fertility and Sterility* 2012; 97(3): 748-756.
14. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update* 2014; 20: 370-385.
15. Rico C, Drouilhet L, Salvetti P, et al. Determination of anti-Müllerian hormone concentrations in blood as a tool to select Holstein donor cows for embryo production: From the laboratory to the farm. *Reproduction, Fertility and Development* 2012; 24(7): 932-944.
16. Fleming R, Fairbairn C, Blaney C, Lucas D, Gaudoin M. Stability of AMH measurement in blood and avoidance of proteolytic changes. *Reproductive biomedicine online* 2013; 26(2): 130-132.
17. Gassner D, Jung R. First fully automated immunoassay for anti-Müllerian hormone. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2014; 52(8): 1143-1152.
18. Vrzáková R, Šimánek V, Topolčan O, et al. The stability of the anti-müllerian hormone in serum and plasma samples under various preanalytical conditions. *Diagnostics* 2023; 13(8): 1501.
19. de Lima MA, Morotti F, Bayeux BM, et al. Ovarian follicular dynamics, progesterone concentrations, pregnancy rates and transcriptional patterns in *Bos indicus* females with a high or low antral follicle count. *Scientific Reports* 2020; 10(1): 19557.
20. Ireland JLH, Scheetz D, Jimenez-Krassel F, et al. Antral follicle count reliably predicts number of morphologically healthy oocytes and follicles in ovaries of young adult cattle. *Biology of Reproduction* 2008; 79: 1219-1225.
21. Silva-Santos KC, Santos GMG, Koetz Júnior C, et al. Antral follicle populations and embryo production—in vitro and in vivo—of *Bos indicus*—taurus donors from weaning to yearling ages. *Reproduction in Domestic Animals* 2014; 49(2): 228-232.
22. Batista EOS, Macedo GG, Sala RV, et al. Plasma antimullerian hormone as a predictor of ovarian antral follicular population in *Bos indicus* (Nelore) and *Bos taurus* (Holstein) heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 2014; 49(3): 448-452.
23. Silva-Santos KC, Santos GMG, Siloto LS, et al. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. *Theriogenology* 2011; 76(6): 1051-1057.
24. Baruselli PS, Batista EOS, Vieira LM, Souza AH. Relationship between follicle population, AMH concentration and fertility in cattle. *Animal Reproduction (AR)* 2018; 12(3): 487-497.
25. Schwarzmann L, Marchand A, Knutti B, et al. Effects of postpartum diseases on antral follicle count and serum concentration of Anti-Müllerian hormone in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2023; 255: 107291.
26. Gobikrushanth M, Dutra PA, Bruinjé TC, et al. Repeatability of antral follicle counts and anti-Müllerian hormone and their associations determined at an unknown stage of follicular growth and an expected day of follicular wave emergence in dairy cows. *Theriogenology* 2017; 92: 90-94.
27. Rico C, Fabre S, Médigue C, et al. Anti-Müllerian hormone is an endocrine marker of ovarian gonadotropin-responsive follicles and can help to predict superovulatory responses in the cow. *Biology of Reproduction* 2009; 80(1): 50-59.
28. Furukawa E, Masaki T, Sakaguchi K, et al. Relationship between the timing of the first postpartum ovulation and antral follicle counts in Holstein cows. *Journal of Ovarian Research* 2020; 13(1): 1-9.
29. García-Guerra A, Motta JC, Melo LF, Kirkpatrick BW, Wiltbank MC. Ovulation rate, antral follicle count, and circulating anti-Müllerian hormone in Trio allele carriers, a novel high fecundity bovine genotype. *Theriogenology* 2017; 101: 81-90.
30. Mossa F, Walsh SW, Butler ST, et al. Low numbers of ovarian follicles ≥ 3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. *J Dairy Sci* 2012; 95:2355-2361.
31. Ribeiro ES, Bisinotto RS, Lima FS, et al. Plasma anti-Müllerian hormone in adult dairy cows and associations with fertility. *J Dairy Sci* 2014; 97: 6888-6900.
32. Souza AH, Carvalho PD, Rozner AE, et al. Relationship between circulating anti-Müllerian hormone (AMH) and superovulatory response of high-producing dairy cows. *J Dairy Sci* 2015; 98(1): 169-178.
33. Garcia SM, Morotti F, Cavalieri FLB, et al. Synchronization of stage of follicle development before OPU improves embryo production in cows with large

- antral follicle counts. *Animal Reproduction Science* 2020; 221: 106601.
34. Center K, Dixon D, Looney C, Rorie R. Anti-Müllerian hormone and follicle counts as predictors of superovulatory response and embryo production in beef cattle. *Advances in Reproductive Sciences* 2018; 6(1): 22-33.
 35. Jaques JT, Cardoso RC, Chachere J, et al. Using anti-Müllerian hormone (AMH) as a predictor of ova production for bovine embryo transfer. *Advances in Reproductive Sciences* 2020; 8(01): 36.
 36. Macias J, Vivanco W, Hurtado E, et al. Plasma anti-müllerian hormone level and its relationship to ovarian reserve, superovulation response, and embryo survival in Brahman (*Bos indicus*) females. *The International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences* 2023; 62.
 37. de Marchi F, Lazzaretti R, de Camargo J, et al. Association between anti-Müllerian hormone levels and reproductive parameters in Wagyu cattle raised in Brazil. *Zygote* 2023; 31: 366-372.
 38. Tessaro I, Luciano AM, Franciosi F, et al. The endothelial nitric oxide synthase/nitric oxide system is involved in the defective quality of bovine oocytes from low mid-antral follicle count ovaries. *J. Animal Sci.* 2011; 89:2389-2396.
 39. Nagai K, Yanagawa Y, Katagiri S, Nagano M. The relationship between antral follicle count in a bovine ovary and developmental competence of in vitro-grown oocytes derived from early antral follicles. *Biomedical Research* 2016; 37(1): 63-71.
 40. Alward KJ, Cockrum RR, Ealy AD. Associations of antral follicle count with fertility in cattle: A review. *JDS Communications* 2023; 4: 132-137.
 41. Rozner A, Verstegen J. Relationship between serum anti-müllerian hormone (amh), ovarian reserve, and embryo production in superovulated Holstein cows. *Reproduction, Fertility and Development* 2012; 25(1): 304-304.
 42. Çizmeci SA, Dinç DA, Bucak MN, et al. The effect of Anti-Müllerian hormone on yield of oocytes recovered by ovum pick-up (opu) in heifers. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques* 2022; 7(2): 161-168.
 43. Jimenez-Krassel F, Scheetz DM, Neuder LM, et al. Concentration of anti-Müllerian hormone in dairy heifers is positively associated with productive herd life. *J Dairy Sci* 2015; 98: 3036-3045.
 44. Morotti F, Barreiros TRR, Machado FZ, et al. Is the number of antral follicles an interesting selection criterium for fertility in cattle? *Animal Reproduction (AR)* 2018; 12(3): 479-486.
 45. de Moraes FLZ, Morotti F, Costa CB, Lunardelli PA, Seneda MM. Relationships between antral follicle count, body condition, and pregnancy rates after timed-AI in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology* 2019; 136: 10-14.
 46. Jimenez-Krassel F, Scheetz DM, Neuder LM, Pursley JR, Ireland JJ. A single ultrasound determination of ≥ 25 follicles ≥ 3 mm in diameter in dairy heifers is predictive of a reduced productive herd life. *J Dairy Sci* 2017; 100(6): 5019-5027.
 47. Sabuncu A, Dal GE, Enginler SO, Kocak O, Arici R. Association of anti-müllerian hormone concentrations between the pregnancy rates and pregnancy continuity of cows in different age groups. *Veterinárni Medicína* 2019; 64; 7.
 48. Batista EO, Vieira LM, Freitas BG, et al. Anti-Müllerian hormone and its relationship to ovulation response and fertility in timed AI *Bos indicus* heifers. *Reproduction in Domestic Animals* 2020; 55(6): 753-758.
 49. Saltik E, Çetin Y. Relationship between sera anti mullerian hormone levels and fertility in Holstein heifers and cows. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University* 2020; 5(3): 106-110.
 50. Akbarinejad V, Gharagozlou F, Vojgani M, Ranji A. Evidence for quadratic association between serum anti-Müllerian hormone (AMH) concentration and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 2020; 218: 106457.
 51. Nawaz MY, Jimenez-Krassel F, Steibel JP, et al. Genomic heritability and genome-wide association analysis of anti-Müllerian hormone in Holstein dairy heifers. *J Dairy Sci* 2018; 101: 8063-8075.
 52. Ireland JJ, Smith GW, Scheetz D, et al. Does size matter in females? An overview of the impact of the high variation in the ovarian reserve on ovarian function and fertility, utility of anti-Müllerian hormone as a diagnostic marker for fertility and causes of variation in the ovarian reserve in cattle. *Reprod Fertil Dev* 2011; 23: 1-14.
 53. Sakaguchi K, Yanagawa Y, Yoshioka K, Suda T, Katagiri S, Nagano M. Relationships between the antral follicle count, steroidogenesis, and secretion of follicle-stimulating hormone and anti-Müllerian hormone during follicular growth in cattle. *Reprod Biol Endocrinol* 2019; 17: 88.
 54. Ireland JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, et al. Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of goodquality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Hum Reprod* 2007; 22:1687-1695.
 55. Jimenez-Krassel F, Folger JK, Ireland JLH, et al. Evidence that high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. *Biol Reprod* 2009; 80:1272-1281.
 56. Widodo OS, Nishihara S, Pambudi D, et al. Relationship between ovary size and anti-müllerian hormone levels in Holstein-Friesian cows. *Frontiers in Veterinary Science* 2022; 9: 828123.
 57. Macías-Andrade JI, Hurtado EA, Carreño-Mendoza AL, Vivanco-Mackie HW. Determination of antimüllerian hormone levels and its relationship with the number of follicles and ovary size in heifers and adult Brahman females. *J Anim Sci Res* 2020; 4: 1.