

*Kocatepe Vet J (2013) 6(2): 35-43*

DOI: 10.5578/kvj.5701

Received : 23.05.2013

Accepted : 17.07.2013

DERLEME

REVIEW

**Anahtar Kelimeler**

GnRH  
Kisspeptin  
Koyun  
Ovulasyon  
Reproduksiyon

**Key Words**

GnRH  
Kisspeptin  
Ewe  
Ovulation  
Reproduction

Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Doğum ve Jinekoloji AD  
Afyonkarahisar-Türkiye

**\* Corresponding author**

Email: mkbirdane@aku.edu.tr

Telefon: +90 (272) 228 13 12

Bu Derleme Afyon  
Kocatepe Üniversitesi, Sağlık  
Bilimleri Enstitüsü tarafından  
kabul edilen doktora tezinden  
(2012-005) özetlenmiştir.

## Kisspeptin Sisteminin Koyun Reproduksiyonu Üzerine Etkileri

Muhammed Kürşad BİRDANE\*, Hacı Ahmet ÇELİK

### ÖZET

Kiss1 geni, kiss1 reseptörü ve kisspeptin peptid sistemi reproduktif fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Kiss1 gen ürünü olan 145 amino asit yapısına sahip prekürsör proteini aktif kisspeptin formlarına dönüşmektedir. Kisspeptin sisteminin gonadal steroidlerin negatif ve pozitif feedback mekanizmasında önemli rolleri vardır. Hipotalamus'un arkuat ve preoptik bölgelerindeki toplam kisspeptin hücre sayısı farklı olup, bu hücre sayıları mevsime ve östrus dönemlerine göre değişmektedir. Kiss1 nöronları nörokinin B ve dinofrin gibi steroidlerin feedback kontrol mekanizmasında önemli rolleri olan diğer nöropeptidlerin ekspresyonunu gerçekleştirmektedir. Kisspeptin gonadotropin sekresyonunu uyarıp ovulasyonu senkronize edebildiğinden fertilitiyi artıracak yeni senkronizasyon protokollerinin geliştirilmesine alternatif olabilir.



### The Effects of Kisspeptin System on Ewe Reproduction

### S U M M A R Y

The Kiss 1 gene, Kiss1 reseptor and kisspeptin peptide system play an important roles in the regulation of reproductive function. Kiss1 gene products 145-amino acid precursor protein cleaved to active kisspeptin forms. The kisspeptin system have important role in the negative and positive feedback mechanism of gonadal steroids. Total kisspeptin cell number appears to differ between the arcuate and preoptic region of the hypothalamus which these cells number change with season and phases of oestrus. Kiss1 neurons express other neuropeptides such as neurokinin B and dynorphin, which may play important roles involving steroids feedback control mechanisms. The ability of kisspeptin to stimulate gonadotropin secretion and synchronization ovulation, alternatives to design new synchronization protocols aimed at improving fertility.

## GİRİŞ

Bilim adamları, kisspeptin (Kp) geninin varlığını ve steroidlerin geri bildirim mekanizmasında kayıp bağlantı olarak tanımladıkları kisspeptin sistemini 2000'li yılların başında tespit etmiştir. Reprodüksiyon ve nöral sinyaller arasındaki etkileşim üzerine yapılan araştırmalar sonucunda, 2003 yılında Kp peptidinin GnRH sekresyonunu kontrol etmedeki rolünün keşfedilmesi, reprodüksiyon ve nöroendokrinoloji alanında yeni çalışmaların önünü açmıştır (Roa ve Tena-Sempere 2007). Reprodüksiyon alanında ilk olarak pubertanın kontrolünde önemi belirlenen Kp'nin, luteinleştirici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormon (FSH) salınımı düzenlediği tespit edilmiştir (Smith 2009, Clarke 2011). Her ne kadar koyunlarda Kp uygulamasının gebe kalma, kuzulama, fecondasyon ve proliferasyon oranları gibi reprodüktif parametreler üzerine belirgin bir etkisinin olmadığı tespit edilse de (Birdane 2012), bir dizi Kp uygulamasının anöstrüs ve üreme döneminde preovulator LH dalgasını tetiklemesi ve senkronize etmesi nedeniyle, başta ovulasyon senkronizasyonu olmak üzere reprodüksiyon alanında başarılı bir şekilde kullanılabileceği ön görülmektedir (Caraty ve Franceschini 2008, Birdane 2012, Okamura ve ark 2013).

### 1. Kisspeptin Sistemi

Kisspeptinler, ilk olarak 1996 yılında keşfedilen ve metastaz süpresör geni olarak tanımlanan Kiss-1 gen ürünleridir (Lee ve ark 1996). Bu gen tarafından kodlanan 145 amino asit yapısına sahip prekürsör protein, post-translasyonel modifikasyonlar sonucunda C-terminal bölgelerinde Arg-Phe-NH<sub>2</sub> motifine sahip, 54, 14, 13, 10 amino asit uzunluğunda çeşitli aktif Kp formlarına dönüşmektedir (Greives ve ark 2007, Hameed ve ark 2011). Bu formlar enerji metabolizması ve reprodüksiyon ile yakından ilişkili olan ve C-terminallerinde ortak arginin-fenilalanin motifine sahip olan RF-amid peptid hormon ailesi içerisinde yer almaktadır (Kauffman ve ark 2007, Dardente ve ark 2008, Clarke ve ark 2009a, Clarkson ve ark 2010). Bağlandıkları reseptörleri ilk olarak kanser alanındaki çalışmalar sırasında 2001 yılında keşfedilmiş ve önceleri G proteinlerine kenetli reseptör-54 (GPR54) olarak ifade edilirken, günümüzde Kp reseptörü (Kiss1r) olarak tanımlanmaktadır (De Roux 2001, Gottsch ve ark 2006, Kirby ve ark 2010).

Kisspeptin reseptöründeki mutasyonun, idiopatik hipogonadotropik hipogonadizm hastalığına yol açığının tespit edilmesi, Kp, Kiss1 ve

Kiss1r sisteminin, reprodüktif endokrinoloji alanındaki diğer etkilerinin araştırılmasına öncülük etmiştir (De Roux 2001, Tena-Sempere 2010). Kisspeptin, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) nöronları üzerindeki Kiss1r'ne bağlanarak GnRH salınımını tetiklemekte ve LH ve FSH düzeylerinde artışa yol açmaktadır. Kisspeptin reseptörünün tahribatı sonucunda normal cinsiyet gelişiminin gerçekleşmeyerek pubertanın başlamadığı, hipotalamik GnRH nöronlarında normal düzeylerde GnRH sentez edilse de LH/FSH sekresyonlarının gerçekleşmediği ve hipofizer gonadotropik hücrelerin dışarıdan verilen GnRH'a karşı tepkisiz kaldığı vurgulanmaktadır (Meczekalski ve ark 2011).

Aktif peptid özelliğindeki en büyük Kp formu Kp-54, kanser ile ilgili çalışmalarda tespit edilmiş ve tümör invazyonunu baskılamasından dolayı metastaz olarak adlandırılmıştır (Hori ve ark 2001, Ohtaki ve ark 2001). En küçük Kp formu olan Kp-10'un reseptör aktivasyonu için yeterli C-terminal amino asit uzunluğuna sahip olduğu, bu amino asit yapısının diğer Kp formlarının tamamında ortak olarak bulunduğu belirtilmektedir (Roseweir ve Millar 2009). Kisspeptin 54, 14, 13, 10 peptidlerinin reseptöre bağlanma ve intrasellüler aktiviteleri benzer olsa da, Kp54 formunun yanılama ömrü ve LH arttırma süresi diğer küçük formlara göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (Mikkelsen ve ark 2009).

Beynin GnRH salınımını kontrol eden bölgelerde Kiss-1 mRNA'larının ekspresyonu gerçekleşmektedir (Estrada ve ark 2006). Koyunda Kiss-1 mRNA ekspresyonu yapan hücreler yoğun olarak beynin GnRH nöronlarında, preoptik (POA) ve arkuat nükleus (ARC) bölgelerine lokalize olduğu belirtilmektedir (Franceschini ve ark 2006, Pompolo ve ark 2006, Lehman ve ark 2010). Kisspeptin'in hipofizdeki rolü henüz daha anlaşılamamıştır. Kisspeptin'in hipofizin ön lobunda uyarıcı bir rol aldığı düşünülse de Kp uygulaması sonucunda oluşan hipofizer Kp sinyallerinin gonodotropin salınımı için yeterli düzeyde olmadığı belirtilmektedir. Bununla beraber hipofiz içerisindeki oluşan Kp sinyallerinin hipotamusla birlikte gonadotropin fonksiyonlarını düzenlediği varsayılmaktadır (Richard ve ark 2009, Hameed ve ark 2011).

Kisspeptin, Kiss-1 ve Kiss1r sisteminin hipotalamus, hipofiz ve gonadal eksen üzerindeki merkezi etkilerinin yanında, kardiyovasküler kontrol, sinaptik iletim, plasentasyon, enerji metabolizması ve kanser bilimi alanlarında da etkilerinin olduğu belirtilmektedir (Hiden ve ark 2007, Mead ve ark 2007, Hill ve ark 2008, Makri ve ark 2008, Silvestre

ve ark 2008, Torricelli ve ark 2008, Fu ve van den Pol 2010, Sawyer ve ark 2011).

## **2. Kisspeptinin Koyunlarda GnRH/LH Sekresyonu Üzerine Etkisi**

Koyunlarda GnRH salınımından sorumlu nöronlar, başta cinsiyet steroidlerinin geri bildirim (GB) etkileri olmak üzere fotoperiyot, metabolik sinyaller ve stresinde yer aldığı pek çok faktör tarafından etkilenmektedir (Campbell 2007). Gonadotropin salgılatıcı hormon nöronlarında, gonadotropin salınımında rol oynayan östrojen reseptör alfa ( $ER\alpha$ ) ve progesteron reseptör (PR) ekspresyonlarının gerçekleşmemesinden dolayı cinsiyet steroidleri ve GnRH sekresyonu arasındaki sinyalizasyon mekanizmasında farklı nöronların aracılık ettiği düşünülmektedir. Koyunlarda  $ER\alpha$  reseptörü bulunan hücrelerde, potansiyel nörotransmitterler arasında başlıca GABA, glutamat, nörokinin B, dinorfin ve Kp yer almaktadır (Clarke ve ark 2009b, Smith ve Clarke 2010). Kisspeptin ekspresyonu gerçekleştiren hücrelerin GnRH nöronları ile etkileşim içerisinde oldukları ve GnRH nöronlarının neredeyse tamamına yakınının Kiss1r mRNA ekspresyonu gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Smith 2009, Smith ve ark 2011).

Kisspeptin'in hızlı ve güçlü bir şekilde GnRH nöronlarını uyararak gonadotropin salınımına neden olduğu bildirilmektedir (Han ve ark 2005, Messenger ve ark 2005). İnsan, kısrak, inek, koyun, keçi, rat gibi türlerde hem intraserebral hem de periferik Kp uygulamaları plazma LH ile FSH düzeylerinde artışa yol açmaktadır (Caraty ve ark 2007, Dhillon ve ark 2007, Kadokawa ve ark 2008, Magee ve ark 2009, Thompson ve ark 2009, Hashizume ve ark 2010, Birdane 2012).

Kisspeptin'in Kiss1r üzerine olan etkilerinin araştırılması aşamasında, Kp uygulamasından önce GnRH ve Kp antagonistlerinin, Kp'nin gonadotropin salgılatıcı etkisini bloke etmesi, Kp'nin Kiss1r aracılığı ile LH/FSH salınımına yol açtığını ispatlamaktadır (Richard ve ark 2009, Millar ve ark 2010, Rişvanlı ve ark 2010). Kisspeptin antagonistinin, Kp'nin GnRH nöronlarının uyarma oranını ve GnRH salınımını düşürdüğü ancak bazal LH sekresyon düzeyinin değiştirmediği belirlenmiştir. Bu nedenle Kp her ne kadar LH salınım sıklığını düzenleyip LH sekresyonunu etkilese de, bazal LH düzeyinin Kp'den bağımsız bir mekanizma tarafından kontrol edildiği ileri sürülmektedir (Millar ve ark 2010).

Bazı canlılarda Kp'nin direkt olarak adeno hipofiz gonadotrop hücreleri etkiliyerek LH ve FSH salınımını uyardıkları tespit edilse de koyunlarda Kp'nin hipofize direkt etkisi tam olarak ortaya konulamamıştır (Smith ve ark 2008a). Koyunlarda GnRH salgılayan hücrelerin %  $90\pm 5$ 'inin Kiss1r mRNA ekspresyonu gerçekleştirdiği ve östrüs siklusunun folliküler döneminde ARC ve POA bölgelerinde Kiss1 mRNA ekspresyon artışının gerçekleştiği bildirilmektedir (Smith ve ark 2009b, Smith ve ark 2011). Arkuat'ta bulunan Kp popülasyonu sayısal olarak POA'dakilere göre daha çok olduğu ve östrüs siklusunun dönemlerine bağlı olarak ARC Kp hücre sayılarının değiştiği, preovulatr LH pikine neden olan geçici pozitif geri bildirim (PGB)'in Kp hücrelerinin aktivasyonundan ve ARC Kiss1 ekspresyon artışından hemen önce gerçekleştiği belirtilmektedir (Clarke ve ark 2009b, Smith 2009, Smith ve Clarke, 2010).

Anöstrüs döneminde, intra venöz yolla bir dizi Kp uygulamalarını takiben bazal düzeyde olan GnRH/LH'ın, ani bir şekilde yükseldiği ve sonrasında da ovulasyonun gerçekleştiği bildirilmektedir (Caraty ve ark 2007). Anöstrüs döneminde  $E_2$ 'nin negatif geri bildirim (NGB) etkisi ile LH sekresyonu baskılanırken Kp uygulaması sonrasında bu etkinin ortadan kalkarak ovulasyonun gerçekleştiği belirtilmektedir (Clarke 2009b). Kisspeptin uygulamalarının, üreme ve anöstrüs dönemlerinde yol açtığı LH salınım düzeyleri arasında farklılık bulunduğu, anöstrüs dönemde LH'ın Kp'e olan duyarlılığın daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Smith ve ark 2009a, Smith ve ark 2011). Üreme döneminde ise preovulatr LH pikine yakın saatte uygulanan Kp-10'un daha etkili LH salınımına yol açtığı öngörülmektedir (Birdane 2012).

## **3. Kisspeptinin Koyunlarda Pozitif ve Negatif Geri Bildirim Mekanizmasına Etkisi**

Gonadotropin salgılatıcı hormon hücrelerinde,  $ER\alpha$  reseptörlerinin bulunmaması nedeniyle ovaryumlar ile GnRH hücreleri arasındaki GB döngüsünde,  $ER\alpha$  reseptör ekspresyonu gerçekleştiren hücrelerin görevli olması gerektiği vurgulanmaktadır (Caraty ve ark 1998). Kisspeptin hücrelerinin GnRH hücrelerine doğrudan sinaptik giriş yapması ve Kp'nin güçlü bir GnRH sekresyonu uyarıcısı olmasından dolayı Kp'nin,  $E_2$ 'nin GB sinyallerini GnRH hücrelerine iletmede görevli olma ihtimalini arttırmaktadır (Kinoshita ve ark 2005, Messenger ve ark 2005). Koyunlarda POA ve ARC bölgelerindeki Kiss1 mRNA ekspresyonlarının cinsiyet steroidlerine göre değişmesi, ayrıca POA ve ARC Kp hücrelerinin NGB ve PGB aracılık etmesi,

bu bölgedeki Kp hücrelerinin GB sinyallerine aracılık ederek GnRH'nin salınımını etkileyebileceğini düşündürmektedir (Franceschini ve ark 2006, Smith ve ark 2009b).

Östradiol'ün, POA'da ER $\alpha$  ekspresyonu gerçekleştirebilen Kp hücrelerini doğrudan ya da dolaylı olarak etkilediği ve bu hücrelerin GnRH hücreleri ile temas içerisinde oldukları belirtilmektedir (Clarke, 2011). Hem preovulatr LH piki zamanından hemen önce, POA bölgesindeki Kiss1 mRNA ekspresyonunda artışı olması hem de E<sub>2</sub> uygulamaları sonucunda Kiss1 mRNA ve peptid ekspresyonunda artışın tespit edilmesi, bu bölgenin E<sub>2</sub>'nin PGB'e aracılık ettiğini göstermektedir (Smith ve ark 2008b, Smith ve ark 2009a). Ancak koyun ARC bölgesinde bulunan hemen hemen tüm Kp hücreleri ER $\alpha$  ekspresyonu gerçekleştirirken, POA Kp hücrelerinin ancak %50'sinin ER $\alpha$  ekspresyonu gerçekleştirdiği belirtilmektedir (Smith ve ark 2007).

Geç folliküler dönemde artan E<sub>2</sub> düzeyinin PGB mekanizması sayesinde ARC Kp hücrelerini tetiklediği ve bu hücrelerde Kp düzeyinin arttığı bildirilmektedir (Estrada ve ark 2006). Ovariectomi sonrasında Kp hücre sayısındaki artışın ve ovariectomi yapılan koyunlara 2 hafta kadar uzun süren E<sub>2</sub> uygulamalarına bağlı olarak aktif ARC Kp hücre sayılarında düşüşe yol açması, bu bölgenin E<sub>2</sub>'ün NGB sinyallerine aracılık ettiğini göstermektedir (Smith 2008, Smith ve ark 2008b, Smith 2009).

Gonadotropin salgılatıcı hormon hücreleri beyin, nörotransmitterler ve nöropeptidlerin dahil olduğu geniş bir sistem tarafından kontrol edilmektedir. Bu nedenle Kp hücrelerinin GnRH hücrelerini etkileyen diğer nöropeptidlerin ekspresyonlarını etkileyebileceği düşünülmektedir (Christian ve Moenter, 2010). Koyunlarda ARC Kp hücrelerinin tamamına yakını dinofrin ve nörokinin B nöropeptidlerin üretimi gerçekleştirebilmektedir (Goodman ve ark 2007). Kisspeptin, nörokinin B ve dinofrin hücreleri birlikte KNDy hücreleri olarak tanımlanmakta ve GnRH/LH salınımını etkilemektedir (Cheng ve ark 2010, Okamura ve ark 2013). Koyunlarda dinofrin reproduktif fonksiyonları baskılayan, nörokinin B ise reproduktif fonksiyonları hem uyarak hem de baskılayarak üremede rol oynamaktadır. Nörokinin B nöronlarının çoğunun ER $\alpha$ , dinofrin hücrelerinin hem P<sub>4</sub> hem de ER $\alpha$  reseptör ekspresyonlarını gerçekleştirdiği ve PGB ile NGB'in kontrolünde önemli rollerinin olduğu belirtilmektedir (Foradori ve ark 2002, Goodman ve ark 2004, Franceschini ve ark 2006, Clarke 2011).

Progesteron'un, dinofrin hücreleri aracılığıyla, ARC bölgesinde bulunan hücrelere NGB sinyalizasyonunu gerçekleştirdiği tespit edilmiştir (Goodman ve ark 2011). Östrüs siklusunun luteal döneminde ARC'de Kp ekspresyonlarında düşüş meydana geldiği ve KNDy hücrelerinin bu dönemde birbirleri ile etkileşim içerisinde olarak NGB sinyallerini GnRH hücrelerine iletmede görevli oldukları belirtilmektedir (Smith 2009, Clarke 2011). Ayrıca KNDy hücreleri hipotalamusun mediobasal GnRH hücre gruplarını etkileyerek de NGB sinyalizasyonunda rol oynamaktadırlar (Goodman ve ark 2004). Bundan dolayı Kp ve bu hücreler birlikte hareket ederek E<sub>2</sub> ve P<sub>4</sub> düzeylerine bağlı olarak hem NGB hem de PGB'in kontrolünde rol oynadıkları, GnRH sekresyonunun ana düzenleyicisi oldukları ve bu nedenle reprodüksiyonun işleyişini etkiledikleri düşünülmektedir (Goodman ve ark 2007).

#### **4. Kisspeptinin Koyunlarda Mevsimsel Üremeye Etkisi**

Koyunlarda bazal hipotalamusun premammiller nükleusunda bulunan melatonin, mevsime bağlı üremenin kontrolünde önemli bir yer tutmaktadır. Ancak bu hormonal sinyalin nasıl GnRH sekresyonuna dönüştüğü günümüzde tam olarak aydınlatılamamıştır (Goodman ve ark 2010). Kisspeptin hücrelerinin bu hormonal sinyallerin GnRH'a dönüşüm mekanizmasında etkin bir rol alabilecekleri düşünülmektedir (Clarke ve ark 2009b).

Beynin ARC bölgesinde ER $\alpha$  ekspresyonu yapan nöronların A15 nükleusu ile etkileşim içerisinde olarak, Kp hücrelerinin E<sub>2</sub> sinyallerini dopaminerjik nöronlara iletmediği, birlikte mevsimsel üremede önemli görevler aldıkları ve A15 nöronlarının Kp nöronlarını inhibe ederek GnRH salınım sıklığını baskıladığı düşünülmektedir (Clarke ve ark 2009b, Goodman ve ark 2010).

Ölümşüzleştirilmiş hücre dizilerinde melatonin'in Kiss1 ekspresyonunu düzenlediği tespit edilmiş ancak Kp hücrelerinin melatonin reseptör ekspresyonu gerçekleştirip gerçekleştirmediği henüz bilinmemektedir (Gingerich ve ark 2009). Mevsime göre ARC'de bulunan Kp hücrelerinin, E<sub>2</sub>'e olan duyarlılıklarında değişmelerin olduğu ve bu sayede Kp'nin mevsimsel üremede etkin bir rol alabileceği vurgulanmaktadır (Smith 2009a). Anöstrüs döneminde E<sub>2</sub>'nin hem Kiss1 mRNA hem de Kp proteini baskıladığı ve Kiss1 ve Kp hücre sayılarında görülen bu çarpıcı düşüşün anöstrüs döneminde görülen reproduktif aktivitenin azalması ile bağlantılı olduğu belirtilmektedir (Smith ve Clarke 2010). Ancak bu düşüşün steroidlerin GB sinyallerine göre

gerçekleştiği ileri sürülse de, anöstrüs döneminde, ovariektomi yapılarak E<sub>2</sub> implant uygulanan koyunlarda, ARC Kp hücrelerinin azalması, üreme döneminin başlangıcında, gonadal GB yokluğunda bile ARC Kiss1 mRNA ekspresyonunun artışı tespit edilmesi nedeniyle, Kp hücrelerinin steroidlerden bağımsız farklı bir mekanizma ile mevsimsel üremede rol aldığını düşündürmektedir (Smith ve ark 2007, Wagner ve ark 2008).

Koyunlar üzerinde fotoperiyot'un üreme dönemi ve anöstrüs döneminde etkinliğinin araştırılması için yapılan çalışmada, 8 saat aydınlık 16 saat karanlık ortamda bulunan koyunlarda ARC'deki Kiss1 mRNA ekspresyonunun, daha uzun süre fotoperiyoda maruz kalan koyunlara kıyasla 3 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Wagner ve ark 2008). Mevsime göre POA bölgesi Kp hücre aktivasyonunda çarpıcı bir değişiklik olmazken, üreme döneminde orta ve kaudal ARC Kp hücre aktivitesi anöstrüs dönemine göre daha yoğun tespit edilmiştir. Bununla beraber üreme döneminde mediobazal hipotalamus bölgesindeki GnRH nöronları ile etkileşim içerisinde Kp sayısı üreme döneminde 2 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Smith ve ark 2008b, Clarke ve ark 2009b). Anöstrüs döneminde E<sub>2</sub>'ün, ARC Kiss1 mRNA ve Kp artışı üzerindeki inhibitör etkisinin üreme dönemine kıyasla daha kuvvetli olması, üreme dönemine geçerken Kp mRNA ekspresyonu artışının gerçekleşmesi ve Kp uygulamalarının anöstrüste olan koyunların ovulasyonunu uyarması Kp'nin, mevsime bağlı üremenin düzenlenmesinde önemli rol oynadığının güçlü birer göstergesi olarak kabul edilmektedir (Smith ve ark 2008b).

Preovulatrör dönemde kaudal ARC'de Kiss1 ekspresyon artışının görülmesi aynı hücrelerin hem PGB hem de NGB'de farklı roller aldıklarını düşündürmektedir. Ancak her ne kadar kaudal ARC bölgesindeki Kp hücreleri mevsimsel üreme ile yakından bağlantılı olsa da mevsimsel üremede rolleri olan nöron topluluklarının sinyalizasyonunda hem POA hem de ARC bölgelerindeki Kp nöronlarının, GnRH nöronlarının kontrolü için gerekli oldukları da belirtilmektedir (Smith ve ark 2008b, Clarke ve ark 2009b).

### 5. Kisspeptinin Koyunlarda Enerji Metabolizması Üzerine Etkisi

Fertilitenin devam edebilmesi için belli bir enerjiye ihtiyaç duyulduğu, yetersiz enerji sonucu hipotalamus, hipofiz ve gonadal eksen üzerindeki sinyalizasyonun yavaşladığı bildirilmiştir (Fu ve van den Pol, 2010). Örneğin enerji homeostazisini

düzenleyen ve vücut yağ dokusu hakkında hipotalamusa bilgi veren leptin yetersizliğinin, hipogonadotropik hipogonadizme neden olarak pubertanın başlamasını engellediği, dolaşımında düşük leptin düzeyi sonucunda görülen reproduktif bozuklukların leptin takviyesi sonucunda normale döndüğü belirlenmiştir. Ayrıca puberta öncesi leptin uygulamaları sonucunda puberta başlama zamanını hızlandırdığı da belirtilmektedir (Backholer ve ark 2010a).

Kisspeptin nöronlarının GnRH nöronlarına metabolik sinyallerin aktarımında görevli olabilecekleri varsayılmaktadır (Roa ve ark 2008, Castellano ve ark 2009). Hipotalamus'un GnRH nöronlarında leptin reseptör ekspresyonu gerçekleşmediği bildirilmektedir. Ancak ARC'de bulunan Kiss1 mRNA ekspresyonu gerçekleştiren hücrelerin yaklaşık yarısında leptin reseptör mRNA'sı, tespit edilmiştir (Castellano ve ark 2009, Meczekalski ve ark 2011, Hameed ve ark 2011). Koyunlarda ARC ve POA Kp hücrelerinin leptin reseptör ekspresyonlarında da rol oynadıkları belirtilip vücut kondisyon skoru'nun aşırı düşmesine bağlı olarak reproduktif fonksiyonların durduğu ancak leptin uygulaması sonucunda, muhtemelen Kp hücrelerin aktif hale geldiği ve böylece reproduktif fonksiyonların tekrar başladığı tahmin edilmektedir (Henry ve ark 2001, Clarke 2011). Ayrıca Kp, metabolizma ile bağlantılı olan nöropeptid Y ve proopiomelanokortin hücreleri ile birlikte hareket ederek beslenme ve enerji durumuna göre cinsiyet steroidlerinin düzenlenmesinde görev alabilecekleri düşünülmektedir (Backholer ve ark 2010b, Fu ve van den Pol, 2010, Clarke 2011).

## SONUÇ

Koyunlarda kisspeptinin uygulama zamanı iyi ayarlanarak kullanılması sonucunda ovulasyonun uyarılarak ovulasyon problemlerinin giderilmesinde ve ovulasyon senkronizasyonunda başarılı bir şekilde kullanılabileceği, suni tohumlama veya in vitro fertilizasyon programları gibi reproduktif programların etkinliğinin geliştirilmesine yönelik araştırmalarda kullanılmaya aday olabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

Backholer K, Bowden M, Gamber K, Bjørbaek C, Iqbal J, Clarke I.J. 2010a. Melanocortins mimic the effects of leptin to restore reproductive function in lean

hypogonadotropic ewes *Neuroendocrinology*. 91(1): 27-40

- Backholer K, Smith J.T, Rao A, Pereira A, Iqbal J, Ogawa S, Li Q, Clarke I.J. 2010b.** Kisspeptin cells in the ewe brain respond to leptin and communicate with neuropeptide y and proopiomelanocortin cells. *Endocrinology* 151: 2233–2243.
- Birdane MK, 2012.** Kisspeptinin koyunlarda Bazı Reprodüktif Parametrelere Etkisi. Doktora tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- Campbell R.E. 2007.** Defining the gonadotrophin-releasing hormone neuronal network: transgenic approaches to understanding neurocircuitry *J Neuroendocrinol*. 19(7): 561-73.
- Caraty A, Fabrenys C, Delaleu B, Locatelli A, Bruneau G, Karsch, F. 1998.** Evidence that the mediobasal hypothalamus is the primary site of action of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin releasing hormone surge in the ewe. *Endocrinology*. 139: 1752–60.
- Caraty A, Smith JT, Lomet D, Ben Saïd S, Morrissey A, Cogne J, Doughton B, Baril G, Briant C, Clarke IJ. 2007.** Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology*. 148(11): 5258-5267.
- Caraty A, Franceschini I. 2008.** Basic aspects of the control of GnRH and LH secretions by kisspeptin: potential applications for better control of fertility in females. *Reprod Domest Anim*. 43(2): 172-178.
- Caraty A, Franceschini I, Hoffman GE. 2010.** Kisspeptin and the preovulatory gonadotrophin-releasing hormone/luteinising hormone surge in the ewe: basic aspects and potential applications in the control of ovulation *J Neuroendocrinol*. 22(7): 710-715
- Castellano JM, Roa J, Luque RM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M. 2009.** KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. *Peptides* 30: 139–145.
- Cheng G, Coolen LM, Padmanabhan V, Goodman RL, Lehman MN. 2010.** The kisspeptin/neurokinin B/dynorphin (KNDy) cell population of the arcuate nucleus: sex differences and effects of prenatal testosterone in sheep *Endocrinology*. 151(1): 301-311
- Christian CA, Moenter SM. (2010).** The neurobiology of preovulatory and estradiol-induced gonadotropin-releasing hormone surges. *Endocr Rev*. 31: 544-77
- Clarke IJ, Qi Y, Puspita I, Smith, JT. (2009a).** Evidence that RF-amid related peptides are inhibitors of reproduction in mammals. *Front Neuroendocrinol*. 30(3): 371-378
- Clarke IJ, Smith JT, Caraty A, Goodman LR, Lehman M. (2009b).** Kisspeptin and seasonality in sheep. *Peptides* 30: 154–163
- Clarke IJ. (2011).** Control of GnRH secretion: One step back. *Front Neuroendocrinol* 32(3): 367-375
- Clarkson J, Han SK, Liu X, Lee K, Herbison AE. (2010).** Neurobiological mechanisms underlying kisspeptin activation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons at puberty. *Mol Cell Endocrinol* 324(1-2): 45-50.
- Dardente H, Birnie M, Lincoln GA, Hazlerigg DG. 2008.** RFamide-related peptide and its cognate receptor in the sheep: cDNA cloning, mRNA distribution in the hypothalamus and the effect of photoperiod. *J Neuroendocrinol*. 20(11): 1252-1259.
- De Roux N, Milgrom E. 2001.** Inherited disorders of GnRH and gonadotropin receptors. *Mol Cell Endocrinol*. 179(1-2):83-7.
- Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, Nijher GK, Amber V, Kokkinos A, Donaldson M, Ghatge MA, Bloom SR. 2007.** Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 92: 3958–3966.
- Estrada KM, Clay CM, Pompolo S, Smith JT, Clarke IJ. 2006.** Elevated KiSS-1 expression in the arcuate nucleus prior to the cyclic preovulatory gonadotrophin-releasing hormone/luteinising hormone surge in the ewe suggests a stimulatory role for kisspeptin in oestrogen-positive feedback, *J. Neuroendocrinol*. 18: 806–809
- Foradori CD, Coolen LM, Fitzgerald ME, Skinner DC, Goodman RL, Lehman MN. 2002.** Colocalization of progesterone receptors in parvicellular dynorphin neurons

of the ovine preoptic area and hypothalamus. *Endocrinology*.143(11): 4366-4374.

- Franceschini I, Lomet D, Cateau M, Delsol G, Tillet Y, Caraty A. 2006.** Kisspeptin immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha. *Neurosci Lett*. 401(3): 225-30.
- Fu LY, Van Den Pol AN. 2010.** Kisspeptin Directly Excites Anorexigenic Proopiomelanocortin Neurons but Inhibits Orexigenic Neuropeptide Y Cells by an Indirect Synaptic Mechanism *J Neurosci*. 30(30): 10205-10219.
- Gingerich S, Wang X, Lee PK, Dhillon SS, Chalmers JA, Koletar MM, Belsham DD. 2009.** The generation of an array of clonal, immortalized cell models from the rat hypothalamus: analysis of melatonin effects on kisspeptin and gonadotropin-inhibitory hormone neurons. *Neuroscience* 162, 1134–1140.
- Goodman RL, Coolen LM, Anderson GM, Hardy SL, Valent M, Connors JM, Fitzgerald ME, Lehman M.N. 2004.** Evidence that dynorphin plays a major role in mediating progesterone negative feedback on gonadotropin-releasing hormone neurons in sheep. *Endocrinology*. 145(6): 2959-2967
- Goodman, R.L Holaskova, I Nestor, C.C Connors, J.M Billings, H.J Valent, M Lehman. M.N Hileman, S.M. 2011.** Evidence that the arcuate nucleus is an important site of progesterone negative feedback in the ewe. *Endocrinology*. 152(9): 3451-60.
- Goodman RL, Jansen HT, Billings HJ, Coolen LM, Lehman MN. 2010.** Neural Systems Mediating Seasonal Breeding in the Ewe. *Journal of Neuroendocrinology* 22, 674–681
- Goodman RL, Lehman MN, Smith JT, Coolen LM, De Oliveira C.V, Jafarzadehshirazi MR, Pereira A, Iqbal J, Caraty A, Ciofi P, Clarke IJ. 2007.** Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology*. 148(12): 5752-60
- Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. 2006.** Kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Mol Cell Endocrinol*. 254-255: 91-96.
- Greives TJ, Mason AO, Scotti MA, Levine J, Ketterson ED, Kriegsfeld LJ, Demas GE. 2007.** Environmental control of kisspeptin: implications for seasonal reproduction. *Endocrinology*. 148(3):1158-66
- Hameed S, Jayasena C, Dhillon W. 2011.** Kisspeptin and fertility. *Journal of Endocrinology* 208(2): 97–105.
- Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, Clifton DK, Steiner RA, Herbison AE. 2005.** Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci*. 25(49):11349-56.
- Hashizume T, Saito H, Sawada T, Yaegashi T, Ezzat AA, Sawai K, Yamashita T. 2010.** Characteristics of stimulation of gonadotropin secretion by kisspeptin-10 in female goats. *Anim Reprod Sci*. 118(1):37-41.
- Henry BA, Goding JW, Tilbrook AJ, Dunshea FR, Clarke IJ. 2001.** Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of luteinising hormone without affecting food intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight. *J. Endocrinol*. 168: 67–77.
- Hidden U, Bilban M, Knöfler M, Desoye G. 2007.** Kisspeptins and the placenta: regulation of trophoblast invasion. *Rev Endocr Metab Disord*. 8: 31-39.
- Hill JW, Elmquist JK, Elias CF. 2008.** Hypothalamic pathways linking energy balance and reproduction. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 294(5): E827-32.
- Hori A, Honda S, Asada M, Ohtaki T, Oda K, Watanabe T, Shintani Y, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Onda H, Kurokawa T, Nishimura O, Fujino M. 2001.** Metastin suppresses the motility and growth of CHO cells transfected with its receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 286: 958–963
- Kadokawa H, Matsui M, Hayashi K, Matsunaga N, Kawashima C, Shimizu T, Kida K, Miyamoto A. 2008.** Peripheral administration of kisspeptin-10 increases plasma concentrations of growth hormone as well as luteinizing hormone in prepubertal Holstein heifers. *J Endocrinol* 196: 331–334.
- Kauffman AS, Clifton DK, Steiner RA. 2007.** Emerging ideas about kisspeptin- GPR54 signaling the neuroendocrine regulation of

reproduction. *Trends Neurosci.* 30(10): 504-511.

- Kinoshita, M Tsukamura, H Adachi, S Matsui, H Uenoyama, Y Iwata, K. (2005).** Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology* 146: 4431-6.
- Kirby HR, Maguire JJ, Colledge WH, Davenport AP. 2010.** International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXVII. Kisspeptin receptor nomenclature, distribution, and function. *Pharmacol Rev.* 62(4): 565-578.
- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch D.R. 1996.** KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 88: 1731 – 1737
- Lehman MN, Merkle CM, Coolen LM, Goodman RL. 2010.** Anatomy of the kisspeptin neural network in mammals. *Brain Res.*1364: 90-102.
- Magee C, Foradori CD, Bruemmer JE, Arreguin-Arevalo JA, Mccue PM, Handa RJ, Squires EL, Clay CM. 2009.** Biological and anatomical evidence for kisspeptin regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of estrous horse mares. *Endocrinology.* 150(6): 2813-21.
- Makri A, Pissimissis N, Lembessis P, Polychronakos C, Koutsilieris M. 2008.** The kisspeptin (KiSS-1)/GPR54 system in cancer biology. *Cancer Treat Rev.* 34(8): 682-92.
- Mead EJ, Maguire JJ, Kuc RE, Davenport AP. 2007.** Kisspeptins are novel potent vasoconstrictors in humans, with a discrete localization of their receptor GPR54, to atherosclerosis prone vessels. *Endocrinology* 148(1):140-147
- Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Genazzani AR. 2011.** Why kisspeptin is such important for reproduction? *Gynecol Endocrinol.* 27(1):8-13.
- Messenger S, Chatzidakı EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon, J Thresher, R.R Malinge, I Lomet, D Carlton, M.B Colledge, W.H Caraty, A Aparicio, S.A. 2005.** Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci USA.* 102(5):1761-1766.
- Mikkelsen JD, Bentsen AH, Ansel L, Simonneaux V, Juul A. 2009.** Comparison of the effects of peripherally administered kisspeptins. *Regul Pept.* 152: 95-100
- Millar RP, Roseweir AK, Tello JA, Anderson RA, George JT, Morgan K, Pawson AJ. 2010.** Kisspeptin antagonists: Unraveling the role of kisspeptin in reproductive physiology *Brain Res.* 1364: 81-89,
- Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. 2001.** Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 411: 613-617
- Okamura H, Yamamura T, Wakabayashi Y. 2013.** Kisspeptin as a master player in the central control of reproduction in mammals: An overview of kisspeptin research in domestic animals. *Anim Sci J.* 84: 369-381,
- Pompolo S, Pereira A, Estrada KM, Clarke IJ. 2006.** Colocalization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone in the ovine brain, *Endocrinology* 147: 804-810
- Richard N, Corvaisier S, Camacho E, Kottler ML. 2009.** KiSS-1 and GPR54 at the pituitary level: overview and recent insights. *Peptides.* 30(1): 123-9.
- Rışvanlı A, Apaydın AM, Bulut H, Timurkaan N, Saat N. 2010.** The effects of Kisspeptin antibodies on delayed estrus in rats. *Gynecol Endocrinol.* 26(4): 297-301.
- Roa J, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M. 2008.** New frontiers in kisspeptin/GPR54 physiology as fundamental gatekeepers of reproductive function. *Front Neuroendocrinol* 29: 48 – 69.
- Roa J, Tena-Sempere M. 2007.** KiSS-1 system and reproduction: comparative aspects and roles in the control of female gonadotropic axis in mammals. *Gen Comp Endocrinol.* 153(1-3):132-40
- Roseweir AK, Millar RP. 2009.** The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum Reprod Update.* 15(2): 203-12
- Sawyer I, Smillie SJ, Bodkin JV, Fernandes E, O'byrne KT, Bram SD. 2011.** The Vasoactive Potential of Kisspeptin-10 in the



Peripheral Vasculature. PLoS One 6(2): e14671.

- Silvestre RA, Egido EM, Hernandez R, Marco J. 2008.** Kisspeptin-13 inhibits insulin secretion without affecting glucagon or somatostatin release: study in the perfused rat pancreas. *J Endocrinol.* 196(2):283-90
- Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ. 2007.** KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology.* 148(3):1150-7
- Smith JT. 2008.** Kisspeptin signalling in the brain: Steroid regulation in the rodent and ewe. *Brain Res Rev.* 57(2):288-98
- Smith JT, Rao A, Pereira A, Caraty A, Millar RP, Clarke IJ. 2008a.** Kisspeptin is present in ovine hypophysial portal blood but does not increase during the preovulatory luteinizing hormone surge: evidence that gonadotropes are not direct targets of kisspeptin in vivo. *Endocrinology.* 149(4):1951-9
- Smith JT, Coolen L, Kriegsfeld L, Sari I, Jaafarzadehshirazi M, Maltby M, Bateman K, Robert L, Goodman R, Tilbrook A, Ubuka T, Bentley G, Clarke I, Lehman M. 2008b.** Variation in Kisspeptin and RFamide-Related Peptide (RFRP) Expression and Terminal Connections to Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons in the Brain: A Novel Medium for Seasonal Breeding in the Sheep. *Endocrinology* 149: 5770-5782.
- Smith JT. 2009.** Sex steroid control of hypothalamic Kiss1 expression in sheep and rodents: comparative aspects. *Peptides.* 30(1):94-102
- Smith JT, Saleh SN, Clarke IJ. 2009a.** Seasonal and cyclical change in the luteinizing hormone response to kisspeptin in the ewe, *Neuroendocrinology* 90: 283–29
- Smith JT, Li Q, Pereira A, Clarke IJ. 2009b.** Kisspeptin neurons in the ovine arcuate nucleus and preoptic area are involved in the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology.* 150(12):5530-5538
- Smith JT, Clarke IJ. 2010.** Seasonal breeding as a neuroendocrine model for puberty in sheep. *Mol Cell Endocrinol.* 324(1-2):102-9.
- Smith JT, Li Q, Yap KS, Shahab M, Roseweir AK, Millar RP, Clarke IJ. 2011.** Kisspeptin is essential for the full preovulatory LH surge and stimulates GnRH release from the isolated ovine median eminence. *Endocrinology.* 152(3):1001-1012.
- Tena-Sempere M. 2010.** Kisspeptin signaling in the brain: recent developments and future challenges. *Mol Cell Endocrinol.* 314(2):164-169.
- Thompson EL, Amber V, Stamp GW, Patterson M, Curtis AE, Cooke JH, Appleby GF, Dhillon WS, Ghatei MA, Bloom SR, Murphy KG. 2009.** Kisspeptin-54 at high doses acutely induces testicular degeneration in adult male rats via central mechanisms. *Br J Pharmacol.* 156(4): 609-25.
- Torricelli M, Gallani L, Voltolini C, Bihotti G, Florio P, De Bonis M, Petraglia F. 2008.** Changes of placental Kiss-1 mRNA expression and maternal/cord kisspeptin levels at preterm delivery. *Reprod Sci.* 15(8):779-84.
- Wagner GC, Johnston JD, Clarke IJ, Lincoln GA, Hazlerigg DG. 2008.** Redefining the limits of day length responsiveness in a seasonal mammal. *Endocrinology* 149: 32–9.