

DERLEME

Kisspeptinler ve Kisspeptin Nöronları: Üreme Sistemi Üzerine Etkileri ve Hipotalamik Yerleşimleri

İlker Mustafa KAFA^{1,2}, Özhan EYİĞÖR³

¹ Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

² Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Bursa.

³ Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

KISS-1 geni (1q32) tarafından üretilen 145 aminoasitlik bir öncül proteinden türeyen ve GPR54 reseptörü üzerinden etkilerini gösteren peptidler kisspeptin nöropeptid ailesini oluşturmaktadır. Kisspeptinlerin, memelilerde, üremenin nöroendokrin düzenlenmesi, puberte ve ovulasyon gibi fonksiyonlar üzerinde önemli ve anahtar roller üstlendikleri bilinmektedir. Farklı memeli türlerinde kisspeptin nöronlarının beyin bölgelerindeki dağılımları, haritalama çalışmaları ve diğer nöropeptid, hormon ve mediatörler ile olan kolokalizasyonları da halen üzerinde çalışılmakta olan konulardır. Laboratuvarımızda yürütülen çalışmalarda da, kisspeptin nöronları, anteroventral periventriküler, preoptik periventriküler ve arkuat çekirdeklerde sırasıyla artan oranlarda belirlenmiştir. Kisspeptinlerin puberte başlangıcında ve hipotalamo-hipofizer-gonadal eksen regülasyonunda etkili oldukları bilinmekle birlikte üremenin nöronal kontrolü açısından açıklığa kavuşturulmayı bekleyen pek çok nokta bulunmaktadır. Kisspeptinlerin literatür bilgileri temel alınarak derlenmesinin kisspeptin nöronlarının merkezi sinir sistemindeki rolleri açısından bilgilerimize katkıda bulunacağına ve ileride yapılması planlanabilecek çalışmalara ışık tutacağına inanmaktayız.

Anahtar Kelimeler: Kisspeptin. Hipotalamus. Arkuat çekirdek. Anteroventral periventriküler çekirdek.

Kisspeptins and Kisspeptin Neurons: Effects on Reproductive System and Hypothalamic Localizations

ABSTRACT

Peptides which are fragments of a precursor polypeptide of 145 amino acids encoded by Kiss-1 gene (1q32) and mediate their effects via GPR54 receptor, constitute the family of neuropeptides termed as kisspeptins. It has been known that the kisspeptins play important and key roles on neuroendocrine regulation of reproduction, puberty and ovulation in mammals. Distributions of kisspeptin neurons in brain regions on different mammal species, mapping studies and colocalizations with the other neuropeptides, hormones and mediators are still a matter of debates. Ongoing studies in our laboratory revealed that the groups of kisspeptin neurons were localized in anteroventral periventricular, preoptic periventricular and arcuate nuclei with increasing densities, respectively in female rats. Many aspects of the roles of kisspeptins on the neuroendocrine regulation of reproduction are still not clear, despite the knowledge of their regulatory effects on puberty and hypothalamic-pituitary-gonadal axis. We believe that, reviewing of kisspeptins and kisspeptin neurons on the basis of the recent literature would shed light on our knowledge in this area and further studies in the way of the roles of kisspeptin neurons in central nervous system.

Key Words: Kisspeptin. Hypothalamus. Arcuate nucleus. Anteroventral periventricular nucleus.

Kisspeptinler, Kiss-1 olarak adlandırılan gen tarafından transkribe edilen bir öncül proteinden türeyen, hipotalamo-hipofizer-gonadal aksı etkileyerek puberte

ve fertilitede önemli roller aldıkları düşünülen, farklı aminoasit uzunluklarındaki peptidler olarak bilinmektedirler. Kisspeptinler ve etkide buldukları GPR54 reseptörleri, insan ve diğer memeli türlerinde üreme fonksiyonlarının kazanılması ve bu fonksiyonları yöneten merkezlerde kisspeptin-GPR54 sisteminin rollerinin anlaşılması açısından ilgi çekmekte ve konu hakkındaki bilgilerimiz gün geçtikçe artmaktadır. Kisspeptin nöronlarının memeli türleri arasında değişen anatomik dağılımları, birer nöropeptid olarak farklı etki güçleri ve türler arasındaki farklı etki mekanizmaları bu derlemede sunulmaya çalışılacaktır.

Hipotalamo-hipofizer-gonadal aks, üreme yeteneğinin kazanılması ve sürdürülmesine aracılık eden, diğer

Geliş Tarihi: 22.11.2010

Kabul Tarihi: 22.02.2011

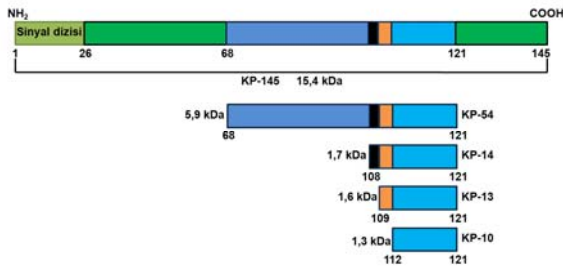
* Bu çalışmanın bir kısmı Uluslararası Katılımlı X. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi'nde "Tematik Bildiri" olarak sunulmuştur.

Dr. Özhan EYİĞÖR
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
16059, Görükle-Bursa
Tel: 0224 295 40 65
e-mail: oeyigor@uludag.edu.tr

sistemlerle kompleks ilişkileri olan merkezi bir sistem olarak karşımıza çıkmaktadır. Puberte sırasında bu sistemin nasıl aktive olduğu uzun yıllar gizemini koymuş ve anlaşılmasını popülar bir araştırma alanı olma özelliğini hala yitirmemiştir. Günümüzde, kisspeptinlerin hipotalamik salınımları sonucunda, gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) etkinliğinin artmasının puberte başlangıcındaki tetikleyici mekanizmanın önemli bir parçası olduğuna inanılmaktadır.¹⁻⁴ Pubertenin tetiklenmesi kadar, organizmanın üreme döngülerine hazırlanması ve mevsimsel üremenin düzenlenmesinde de kisspeptinlerin önemli etkisi olduğu düşünülmektedir.

KISS-1, GPR54 ve Kisspeptinler

GPR54 reseptörü, memeli beyininde yaygın olarak bulunan galanin reseptörleri ile %45 benzerlik taşımakta ve G proteini bağlantılı reseptörler (GPCR) ailesinin bir üyesi olarak bilinmektedir. Pek çok merkezi sinir sistemi alanları yanında periferik olarak da lokalize edilen GPR54 reseptörünü kodlayan genin keşfi 1999 yılında olmuştur.⁵ 2001 yılında da üç farklı merkezde yapılan bağımsız çalışmalar ile daha sonradan kisspeptin-54 olarak isimlendirilecek olan “metastin” in etkilerine aracılık ettiği bulunmuş ve kendisine atfedilen şekliyle, öksüz “orphan” bir reseptör olma sınıflandırmasından çıkarılmıştır.⁶⁻⁸ İnsanlarda, GPR54 reseptörünün özellikle plasenta, hipofiz, pankreas ve medulla spinaliste yüksek oranlarda eksprese edildiğinin görülmesinden dolayı endokrin fonksiyonları olabileceği düşünülmüştür.⁶ Günümüzde, bir metastaz baskılayıcı gen olarak bilinen KISS-1 geninin kodladığı ve C terminallerinde ortak RF-amid (Arg-Phe-NH₂) dizileri taşıyan 54, 14, 13 ve 10 aminoasitlik bir dizi proteinin, GPR54 reseptörüne bağlanarak agonist etki gösterdikleri bilinmektedir.⁶



Şekil 1:

Kisspeptin prekürsörü KP-145 ve karboksi terminal parçasından oluşan kisspeptin-54 (metastin), kisspeptin-14, 13 ve 10.

Prekürsörlerini kodlayan genin keşfedildiği şehire ait ünlü bir çikolata markasına (Hershey Kisses) itafen kisspeptin adını alan bu peptidler (kisspeptin 54, 14, 13 ve 10), üremeden enerji metabolizmasına kadar

geniş bir yelpazede fonksiyon gösteren RF amid peptidleri ailesinin üyeleri olarak tanımlanmaktadır. Kisspeptinler, C terminallerinde 10 aminoasitlik aktif ve kisspeptin-10 olarak adlandırılan bir aminoasit dizisini ortak olarak taşırlar (Şekil 1).^{2,6} GPR54 reseptörü tanımlaması yerine artık KISS1R (kisspeptin reseptörü) teriminin kullanımı da literatüre girmiştir ve kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu proteinlerin öncülerini kodlayan Kiss-1 geni ilk olarak insan malign melanoma hücre kültürlerinde “tümör metastaz baskılayıcı” bir gen olarak 1996 yılında izole edilip duyurulurken, kisspeptin peptidlerinden en fazla aminoasit dizisine sahip olan kisspeptin-54, insan melanom ve meme kanseri hücre kültürlerinde hücre çoğalmasını önleme özelliklerinin bilinmesinden ötürü metastin olarak adlandırılmıştır.^{5,9}

Son on beş yıllık süreç içerisinde edinilen bilgiler ışığında, KISS-1 geni (1q32) tarafından üretilen 145 aminoasitlik bir öncül proteinden türeyen ve GPR54 üzerinden etkilerini gösteren peptidlerin kisspeptin nöropeptid ailesini oluşturduklarını bilmekteyiz.^{10,11} Kisspeptinler arasında fizyolojik etkileri açısından en güçlü reseptör etkisi olan ve doğal olarak oluşan kisspeptin parçasının kisspeptin-10 olduğu konusunda görüş birliği olmasına karşın, farklı kisspeptinlerin değişik türlerde birbirinden farklı etki gösterdikleri yapılan çalışmalarda görülmektedir.^{6,8} Kemiricilerde metastinin in-vivo olarak diğer kisspeptin parçacıklarından daha fazla güçlü etkide olabileceği gösterilmiştir.¹²

Kisspeptin-GPR54 Sistemi, GnRH ve Puberte

Kisspeptin salınımının ve bu salınımı yapan hücrelerin öneminin anlaşılması için, yapılmış olan çalışmaların elverdiği ölçüde, kisspeptinler ve etkiledikleri reseptörlerin oluşturduğu sistemin diğer sistemler ve diğer hipotalamik ya da olası diğer bölgelerdeki hücreler ile olan ilişkilerinin bilinmesi gerekmektedir. Kisspeptinler ve bu protein parçacıklarının GPR54 reseptörü ile olan fonksiyonel ilişkileri “kisspeptin-GPR54” sistemi olarak tanımlanmakta, bu sisteme dahil olan ve kisspeptin immünoreaktivitesi taşıyan hücrelerin projeksiyonda buldukları alanlarla birlikte, üreme fonksiyonları ve puberte başlangıcında önemli roller üstlendikleri düşünülmektedir.^{2,13}

Kisspeptinlerin reseptör aktivasyonunda gerekli olan C-terminallerindeki aktif aminoasit dizilerinin GPR54 reseptörüne bağlanması ile fosfolipaz-C aktivasyonu ve inozitol 1,4,5 trisfosfat artışı meydana gelmekte, Ca⁺⁺ artışı ve ekstrasellüler sinyal ile düzenlenen kinaz (ERK) ile p38 mitojen ile aktive edilen protein kinaz (p38 MAPK) yollarının aktivasyonu Ca⁺⁺ artışı takip etmektedir.¹⁴ GPR54 reseptörü fonksiyon kaybına yol açan mutasyonların, insanlar ve farelerde pubertal gelişim ve üreme aktivitelerinde kayıp ile birlikte hipogonadotropik hipogonadizme neden oldu-

Kisspeptinler ve Kisspeptin Nöronları

ğunun belirlenmesi, bu reseptörün pubertede normal GnRH aktivitesi için gerekli olduğunu göstermiş ve bu çalışmalar sonucunda, kisspeptin-GPR54 sisteminin üreme sistemi üzerindeki etkilerini araştıran çok sayıda çalışmaya öncü olmuştur.^{1,15-17} Değişen derecelerde hipogonadizm, pubertenin tamamen oluşmaması ya da kısmi ve tamamlanmamış puberte ile sonuçlanan en az yedi farklı GPR54 reseptör mutasyonunun, kisspeptin-GPR54 sistemini etkilediği bildirilmiştir.¹⁸ GPR54 mutasyonları sonucunda seksüel gelişim, üreme ve fertilitiyi etkileyen tüm farklı fenotipik gelişim bozuklukları, kisspeptin-GPR54 sisteminin GnRH nöronlarının aktif olduğu, fetal gelişim, neonatal yaşam, puberte ve erişkinlikte de gerekli olduğunu düşündürmektedir.¹⁸ GPR54 -/- (GPR54 geni homozigot olarak delesyona uğratılan) erkek farelerde testislerin küçüldüğü, dişilerde foliküler matürasyonun görülmediği ve vaginal açılmada gecikme olduğu tespit edilmiştir.¹ Ayrıca, bu durumun tersine bir şekilde, kisspeptin yanıtına yönelik intrasellüler uyarıların uzamış aktivasyonuna yol açan GPR54 mutasyonlarının da insanlarda merkezi puberte prekoksya neden olduğu bilinmektedir.¹⁹ GPR54 -/- farelerde hipogonadizm görülmesine rağmen, GnRH nöronlarının normal morfolojiye sahip oldukları ve median eminense projekte olduklarının gösterilmesi, bu patolojinin oluşmasında GnRH nöronlarından daha üstte yer alan mekanizmaların devreye girdiğini göstermektedir.²⁰ GPR54 -/- farelerde, etkilenmemiş bir GnRH hücre topluluğu ile birlikte, reseptör-ligand ilişkisinin reseptör yönünden engellenmesi sonucunda pubertenin ortaya çıkışının etkilendiğini gösteren çalışmalar, kisspeptin-GPR54 sisteminin üreme fonksiyonlarının gelişimindeki önemli başlatıcı ve uyarıcı etkilerine de ışık tutmaktadır.²⁰ Kisspeptinlerin, GnRH bağımlı LH ve FSH salınımına neden oldukları GPR54 mutasyonlu fareler yanında sıçanlarda da gösterilmiş ve periferik yolla verilen metastinin dişi ve erkek sıçanlarda gonotropin düzeylerini arttırdığı, prepubertal dişilerde ovulasyona neden olduğu bildirilmiştir.^{21,22} Bu etkinin GnRH antagonistleri ile engellenebilmesi de önemli bir bulgudur.²¹ Primatlarda da kisspeptin verilmesinin GnRH ve LH düzeylerinde GnRH antagonistleri ile geri döndürülebilen salınım artışına neden olduğu bilinmektedir.²³ Ayrıca yine primatlarda GPR54 mRNA seviyelerinin prepubertel dönemde, Kiss-1 mRNA seviyelerinin de puberte ile birlikte arttığı bilinmektedir.²³

GnRH salınımı yapan nöronların dağılımlarının, farklı memeli türlerinde farklı biçimlerde karşımıza çıktığını bilmekteyiz.²⁴ Kisspeptin nöronları ile GnRH nöronları arasındaki fonksiyonel ya da anatomik ilişkiler üzerine olan çalışmaların bu farklılıkları dikkate almaları gerekmektedir.²⁵ Sıçanlarda^{21,26}, farelerde²⁰, koyunlarda²⁷ ve primatlarda²⁸ olduğu gibi insanlarda hem erkek hem kadınlarda kisspeptin verilmesinin gonadotropin düzeylerinin arttırdığı bilinmektedir.⁴ Kisspeptin fragmanları arasında en fazla amino asit dizisine sahip olan kisspeptin-54 ün intravenöz infüzyonu ile erkeklerde plazma LH seviyelerinde iki kat, FSH da %18 ve testosteron seviyelerinde %13 lük

artış gözlenirken kisspeptin-54 ün kadınlarda derialtı enjeksiyonu ile LH da 7 kat daha fazla ve preovulatar fazda daha belirgin olmak üzere hem LH hem de FSH düzeylerinde artma gözlemlenmiştir.^{4,29}

Kisspeptin nöronlarının GnRH nöronlarına olan etkileri ve bu etkinin mekanizmaları, GPR54 reseptörünün GnRH nöronlarındaki kolokalizasyonlarının ortaya çıkarılması ve ileri araştırmalar ile tartışabileceği gibi bu konu da ek bazı noktaların da orta çıktığını görmekteyiz. Farelerde, medio-bazal-hipotalamik eksplant kültürlerinde kisspeptin uyarımı ile GnRH salınımı olduğu ve tetradoksin ile bu kisspeptin bağımlı GnRH salınımının değişmediği gösterilmiştir.³⁰ Tetradoksin potent bir voltaj kapılı Na⁺ kanal blokleri olarak median eminense projekte olan GnRH nöronlarındaki aksiyon potansiyellerini engelleyeceğinden, kisspeptinlerin direkt olarak medio-bazal hipotalamustaki GnRH sinir terminallerine etkili olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.³⁰

Ovarian siklusun foliküler fazında artan östrojen seviyelerinin hipofiz kaynaklı ve ovulasyondan sorumlu olan LH salınımına neden olacak şekilde hipotalamustan GnRH salınımını artırdığı bilinmektedir. Östrojenin GnRH nöronları üzerindeki pozitif geribildiriminin anteroventral periventriküler, median preoptik ve periventriküler preoptik çekirdeklerde bulunan ve östrojen alfa reseptörü (ER α) ekspresyon eden nöronlar aracılığı ile dolaylı yoldan olduğu düşünülmektedir. GnRH nöronları ile ilişkide olan bu nöronların kisspeptin de dahil olmak üzere glutamat, GABA ve nörotensin salınımında buldukları gösterilmiştir.³¹ Bulgular artıka hipotalamik kisspeptin nöron topluluklarının rol dağılımlarındaki önemli bir noktanın da östrojen bağımlı GnRH ve LH salınımlarının düzenlenmesi olduğu ortaya çıkmıştır.³² ER α üzerinden yapılan çalışmalar, kemiricilerde arkuat çekirdekteki kisspeptin nöron topluluklarının GnRH salınımında negatif feed-back rolü üstlendiklerini, anteroventralperiventriküler çekirdekteki (AVPV) kisspeptin nöronlarının ise pozitif feed-back görevi yaptığını düşündürmektedir.^{33,34} Koyunlarda da arkuat çekirdek kaudalindeki kisspeptin nöronlarının hemen hemen tamamının ve preoptik alandakilerin yarısının değişen yoğunluklarda ER α taşıdıkları gösterilmiştir.³² Farklı türlerde yapılan çalışmalar ile kisspeptin nöronlarının ayrıca seks steroidlerine duyarlı oldukları görülmektedir. Kastrasyon ya da overektomi ile primatlar ve kemiricilerin arkuat çekirdeklerinde kisspeptin ekspresyonu artmakta, kemiricilerde AVPV'de azalma görülmekte, koyunlarda da overektomi ile arkuat çekirdekte ekspresyon artışı izlenmektedir.²

Mevsimsel Üreme ve Üremenin Metabolik Kontrolü

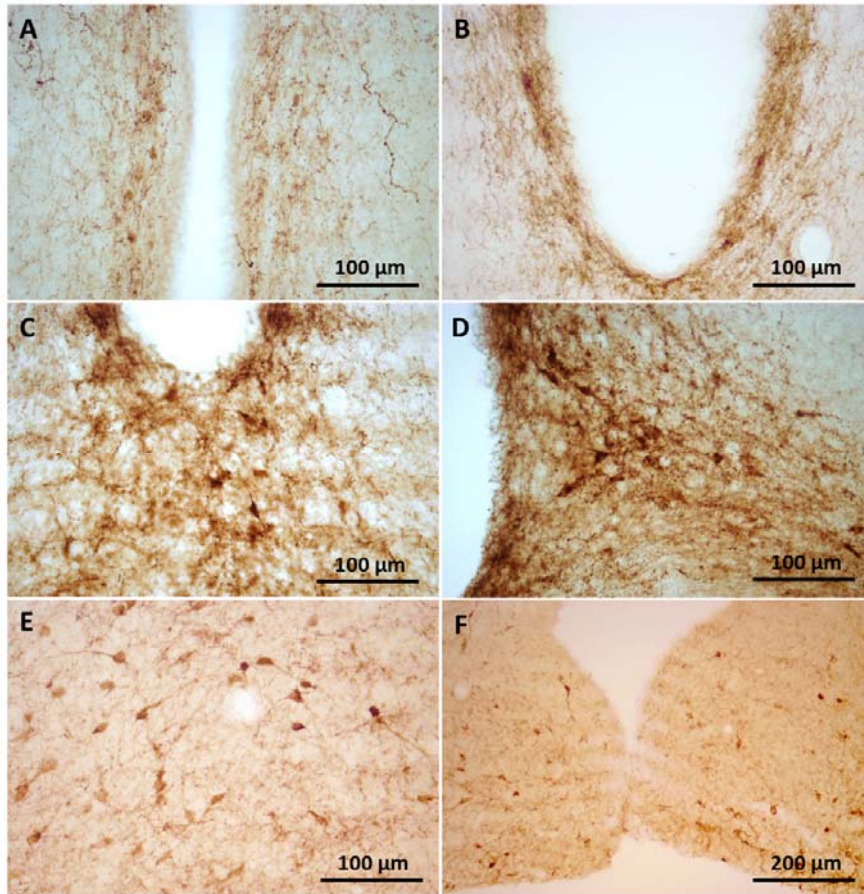
Suriye hamsterları ile yapılan çalışmalar, mevsimsel üreme ve kisspeptinler arasındaki ilişkiyi ortaya çı-

karmış ve gün ışında azalma olan mevsimsel durumların arkuat çekirdekte Kiss-1 mRNA seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. Bu kisspeptin inhibisyonu pinealektomi ile önlenilmekte ve direkt ya da indirekt yollardan melatonin aracılı olduğu düşünülmektedir.³⁵ Kisspeptin-GPR54 sistemi üzerinde mevsimsel üreme konusunda melatonin etkileri olduğu gibi üremenin metabolik düzenlenmesi konusunda da leptinin etkileri tartışılmaktadır. Kastrasyon yapılmış erkek farelerde yapılmış bir çalışmada, kisspeptin eksprese eden nöronların yaklaşık yarısında leptin reseptörlerinin de kolokalize olması, kisspeptin nöronlarının leptinin direkt hedeflerinden biri olduğunu ve bu nöronların üremenin metabolik düzenlenmesinde rol alabileceklerini düşündürmektedir.^{33,34} Leptin yetersizliği olan ob/ob mutasyonlu farelerde iştah engellenmemekte ve obezite meydana gelmektedir. Bu farelerde normal genetik yapıdaki farelere göre arkuat çekirdeklerinde Kiss-1 mRNA düzeylerinde azalma tespit edilmiştir. Yine bu azalmanın leptin tedavisi ile normalin altında kalacak şekilde düzeldiği

gözlemlenmiştir.^{33,34} Koyunlarda da arkuat çekirdek ve preoptik alandaki kisspeptin nöronlarında leptin reseptörleri bulunmakta ve leptin ile etkileşmektedirler. Kisspeptin verilmesi ile enerji balansında rol aldıkları bilinen nöropeptit-Y'nin gen ekspresyonunu artmakta ve pro-opiomelanocortin'nin gen ekspresyonu azalmaktadır.³⁶ Üremeyi etkileyen farklı bir yol olarak, enerji dengesi, adipoz doku fonksiyonları ve iştah gibi metabolik konularla kisspeptin nöronları arasındaki ilişkiler üzerine olan araştırmalar gün geçtikçe artmakta ve yukarıda bahsedilen bağlantıları açısından dikkat çekmektedir.

Kisspeptin Nöronlarının Hipotalamik Dağılımları

Farklı memeli türlerinde kisspeptin nöronlarının beyin bölgelerindeki dağılımları, haritalama çalışmaları ve diğer nöropeptid, hormon ve mediatörler ile olan kolokalizasyonları halen üzerinde çalışılmakta olan



Şekil 2:

Kisspeptin nöron ve aksonlarının dişi sıçan hipotalamusundaki dağılımları. Anteroventral periventriküler çekirdekte (A) arkuat çekirdekten daha az oranda hücresel kisspeptin immünoreaktivitesi gözlemlenirken, preoptik periventriküler çekirdek düzeylerinde aksonal kisspeptin immünoreaktivitesi (B) yoğun olarak tespit edilmiştir. Anterior arkuat çekirdek (C) az sayıda, medial arkuat çekirdek (D) ise orta düzeyde nöron gövdesi sayısı içerirken posterior arkuat çekirdekte (E, F) ise çok sayıda işaretli nöron gövdesi görülmüştür. Rostral alanlarda akson yoğunluğu yüksek olarak izlenmiştir.

Kissseptinler ve Kissseptin Nöronları

konulardan biridir. Kendi çalışmalarımızda, kissseptin nöronlarının sıçan beyinlerindeki normal dağılımları incelenmiş ve AVPV’de, preoptik periventriküler ve arkuat çekirdeklerde kissseptin immunoreaktivitesi olan hücre toplulukları tanımlanmıştır.³⁷ Bulgularımız, kissseptin nöronlarının sıçanlarda AVPV’nin dağılık ve diğer hipotalamik alanlara göre en az sayıda immunoreaktif hücre gövdesi içerdiğini, anterior arkuat çekirdeğin yine az sayıda, medial arkuat çekirdeğin ise orta düzeyde nöron gövdesi sayısı içerdiğini göstermiştir. Rostral alanlarda akson yoğunluğunun yüksek olduğu görülmüştür. Posterior arkuat çekirdekte ise çok sayıda işaretli nöron gövdesi bulurken, akson yoğunluğunun daha az olduğu tespit edilmiştir (Tablo I, Şekil 2). Diğer çalışmalara bakıldığında, kissseptin immünoreaktivitesi gösteren nöronların fare beyininde, hipotalamik yerleşimli oldukları, yoğun bir periventriküler devamlılık gösterecek şekilde 3. ventrikülün rostral kısmında, arkuat çekirdekte ve daha az yoğunluktaki dağılık hücre grupları halinde dorsomedial hipotalamik çekirdek ve posterior hipotalamusta buldukları gösterilmiştir.^{10,38} Kissseptin nöronlarına ait sinir uzantılarının da yine kemiricilerde lateral septumun ventral bölümünde, hipotalamusun periventriküler bölgelerinde, retrokiazmatik yolların ventralinde buldukları, ayrı-

ca stria terminalisin bed nükleusu, subfornikal organ, medial amigdala, paraventriküler hipotalamus, periakuaduktal gri cevher ve locus ceruleusta da yoğunlaştıkları bildirilmektedir.^{10,38} Koyunlarda yapılan çalışmalara bakıldığında, kissseptin nöronlarının arkuat çekirdek kaudalinde, dorsomedial hipotalamik çekirdekte ve medial preoptik alanda yoğunlaştıkları görülmektedir.³² Arkuat çekirdek kaudalindeki kissseptin nöronlarının, bu memeli türünde periovaluar olarak “upregüle” oldukları bildirilmiştir.³⁹ Pompolo ve ark. diğer türlerden farklı olarak koyunlarda, preoptik alanda, GnRH hücreleri ile kissseptin kolokalizasyonu göstermişlerdir. Atlarda da, kissseptin nöronlarının özellikle arkuat çekirdekte, çekirdeğin orta kısımlarından recessus premamillaris’e doğru uzanacak şekilde dağılımları tanımlanmış ve kissseptin immunoreaktivitesi gösteren nöronal uzantıları, varikoz görünümü boyanma özellikleri taşıdıkları ve preoptik alandan mamillar çekirdeklere doğru uzandıkları, yoğunluklarının ise periventriküler alanda ve median eminente yüksek oranda olduğu gösterilmiştir.⁴⁰ Atlarda kissseptin ve GnRH nöronlarına ait sinir uzantılarının arasındaki ilişkinin median eminente fazla, anterior bazal periventriküler alanda daha az olduğu belirtilmiştir.⁴¹ Primatlarda da arkuat çekirdekte kissseptin nöronları tanımlanmıştır²³, ancak

Tablo I. Kissseptin nöronlarının farklı memeli türlerinde merkezi sinir sistemindeki dağılımları üzerine yapılmış çalışmalar. Kissseptin nöron pozitiflikleri azalan yoğunluklarla verilmiştir ve parantez içindeki alanlar dağılık ve az sayıda hücre bulunduğunu göstermektedir. KP, kissseptin; IHK, immünohistokimya; ISH, insitu hibridizasyon; RT-PCR, reverse transcriptase polymerase chain reaction; WB, western blot; Arc, arkuat çekirdek; DM, dorsomedial hipotalamik çekirdek; RP3V, rostral periventriküler alan; PH, posterior hipotalamus; AVPV, anteroventral periventriküler çekirdek; PeN, Periventriküler çekirdek; POA, preoptik alan; BnST, stria terminalisin bed çekirdeği; VMH, ventromedial çekirdek; LRt, lateral retiküler çekirdek; CVL, caudoventrolateral retiküler çekirdek; Sol, nükleus traktus solitarius; SP5, spinal trigeminas traktus; RVL, rostroventrolateral retiküler çekirdek.

Tür-Cins	Teknik	İşaretleyici	Kissseptin nöron pozitifliği görülen alanlar	Referans
At-dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti fare KP-10 (AC 566) (KP 43-52)	Arc, (DM)	41
Fare-dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti fare KP-10 (AC 566) (KP 43-52)	RP3V, Arc, DM, PH	38
Fare-dişi	ISH		Arc, AVPV, PVN, (POA, amigdala, BnST)	47
Hamster-erkek	IHK	Tavşan anti insan (KP 4-13) (T-4771-Peninsula Lab. Inc.)	Arc, AVPV, DM	48
Hamster-erkek	IHK	Poliklonal tavşan anti fare KP-10 (AC 564)	Arc	49
Hamster-erkek	ISH		Arc	49
Koyun-dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti fare KP-10 (AC 566) (KP 43-52)	AVPV, Arc, POA, DM	32
Koyun-dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti fare KP-10 (AC) (KP 43-52)	Arc, POA	50
Koyun-dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti insan KP-10 (KP 45-54) (Phoenix Pharmaceuticals-Inc.)	POA, PVN, Arc, (DM, VMH)	40
Sıçan-dişi	IHK	Monoklonal anti sıçan metastatin (KP 1-52) (No:254)	Arc	51
Sıçan-erkek/dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti insan KP-10 (KP 45-54) (Phoenix Pharmaceuticals-Inc.)	DM, LRt, Arc, PVN, VMH, CVL, Sol, Sp5	43
Sıçan-erkek/dişi	RT-PCR		Hipotalamus, beyin sapı, medulla spinalis, serebral korteks	43
Sıçan-erkek/dişi	WB	Poliklonal tavşan anti insan KP-10 (KP 45-54) (Phoenix Pharmaceuticals-Inc.)	Hipotalamus, beyin sapı, medulla spinalis	43
Sıçan-erkek/dişi	IHK	Poliklonal tavşan anti insan KP-10 (KP 45-54) (Phoenix Pharmaceuticals-Inc.)	Sol, CVL, (RVL, medulla spinalis)	52
Sıçan-erkek/dişi	IHK	Anti fare KP	Arc, AVPV	53
Sıçan-erkek/dişi	ISH		AVPV, Arc	46

primatlarda şimdiye kadar ki çalışmalara bakıldığında, AVPV yerleşimli kisspeptin nöronları konusunda fazla bilgi bulunmamaktadır.⁴² Medial hipotalamik yapılarla birlikte lateral septal beyin bölgelerinin bu üç ana kisspeptin nöron grubu tarafından (AVPV, periventriküler ve arkuat nükleuslar) innerve edildikleri düşünülmekle birlikte bu projeksiyonların fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir.³⁸ Farklı türlerde ve farklı antikörler ile yapılan çalışmalarda kisspeptin nöronlarının dağılım alanları Tablo I de görülmektedir. Farklı memeli türlerinin hipotalamuslarında kisspeptin nöronlarının yoğunlaştıkları çekirdeklerin ve alanların, aynı zamanda nöronal uzantılarının yoğunluklarının tespit edilme ve tanımlanma farklılıkları ya da bazı çalışmalarda tanımlanamamaları ile ilgili sorunların, kullanılan işaretleme metodların duyarlılıkları ve ayrıca kullanılan antikörlerin özelliklerinden kaynaklanıp kaynaklanmadığı konusu tartışılmaktadır. Brailoiu ve ark.'nın sıçanlardaki çalışmalarında preoptik dorsal hipotalamus dışında ön hipotalamus alanlarında kisspeptin immünoaktivitesini göstere-memiş olmaları, çalışmalarında kullanılan antikörün insan metastin peptidinin 45-54 parçasına yönelik olması ve çalışma düzeninde kullanılan deney hayvanı türüne özgül olmamasından kaynaklandığı düşünülmektedir.^{38,43} Daha özgül antikörlerin kullanımı ile üstesinden gelenebilen bu gibi etkenlerin ötesinde, tür farklılıklarının yanı sıra cins farklılıkları da dikkate alınmalıdır. Örnek olarak, kemiricilerde AVPV bölgesinde cinsiyete bağlı farklı kisspeptin dağılımı olduğu bilinmektedir.^{44,45} Kisspeptin nöronları AVPV'de dişilerde daha fazla oranda bulunmakta ve testosteron verilmesi ile perinatal olarak erkeklerle aralarındaki bu farklılık azalabilmektedir.⁴⁶ AVPV'deki kisspeptin nöron topluluğun ana rollerinden birinin dişilerde prenatal olarak gonadal steroidlerce organize edilerek erişkin yaşama taşınan preovuluar GnRH/LH dalgasının oluşumunda rol alabileceği düşünülmektedir.⁴⁶

Türler arasındaki farklılıkların kisspeptinler üzerine yapılan çalışmalarda önemli bir faktör olduğu görülmektedir. Amfibilerde ve memelilerde tanımlanmış olan Kiss-1 geni dışında ikinci bir form olan Kiss-2 geni de kuşlar, kemiriciler ve primatlar dışındaki bazı vertebralılarda tanımlanmıştır ve işlevleri halen araştırılmaktadır.⁵⁴ Pubertal gelişim açısından, kemiricilerde gözlenen değişikliklerin diğer türlerde görülenlerden daha farklı olabileceği ve son yıllardaki primatlar üzerinde yapılan deneylerin daha yol gösterici sonuçlara ulaşabileceği de düşünülmektedir.⁵⁵ Kisspeptin nöronlarının, pubertedeki ve diğer nöroendokrin düzenlemelerdeki fonksiyonları üzerine yapılan çalışmalar gittikçe artış gösterirken, kisspeptinlerin hipotalamo-hipofizer-gonadal eksenindeki rollerinin iç ve dış pek çok faktörden etkilendiği ve bu faktörlerce düzenlenebildiği açığa çıkarılmıştır. Steroid hormonların negatif ve pozitif etkilerinin yanında, leptin ve melatoninin de çevresel faktörler ile birlikteki düzen-

leyici etkilerinin olduğu bilinmektedir.⁵⁶ Kisspeptinlerin GPR54 reseptörlerini aktive ettikleri puberte başlangıcında ve hipotalamo-hipofizer-gonadal eksen regülasyonunda etkili oldukları bilinmesine rağmen sıçan beyinlerindeki anatomik dağılımları ise tam olarak net değildir. Elde edilmiş olan bulgularımızın ve bu derlemede sunulan literatür kapsamının, kisspeptin nöronlarının merkezi sinir sistemindeki rolleri açısından, bilgilerimize ve ileride yapılması planlanabilecek çalışmalara ışık tutacağına inanmaktayız.

Referanslar

1. Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acirno JS Jr, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwinof KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaughaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley WF Jr, Aparicio SA, Colledge WH. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003;349:1614-27.
2. Dhillo WS. Kisspeptin: a novel regulator of reproductive function. *J Neuroendocrinol* 2008;20:963-70.
3. Seminara SB, Crowley WF Jr. Kisspeptin and GPR54: discovery of a novel pathway in reproduction. *J Neuroendocrinol* 2008;20:727-31.
4. Jayasena CN, Dhillo WS, Bloom SR. Kisspeptins and the control of gonadotropin secretion in humans. *Peptides* 2009;30:76-82.
5. Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, Coulombe N, Tan CP, Tang-Nguyen AT, George SR, O'Dowd BF. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett* 1999;446:103-7.
6. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, Brezillon S, Tyldesley R, Suarez-Huerta N, Vandepuut F, Blanpain C, Schiffmann SN, Vassart G & Parmentier M. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *Journal of Biological Chemistry* 2001;276:34631-36.
7. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P, Steplewski K, Shabon U, Miller JE, Middleton SE, Darker JG, Larminie CGC, Wilson S, Bergsma DJ, Emson P, Faull R, Philpott KL, Harrison DC. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem* 2001;276:28969-75.
8. 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. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 2001;411:613-7.
9. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:1731-7.
10. Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Pupa SM, Acohido BV, Crowley WF, Seminara S, Clifton DK, Steiner RA. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2004;145:4073-7.
11. Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. From KiSS1 to kisspeptins: An historical perspective and suggested nomenclature. *Peptides* 2009;30:4-9.

Kisspeptinler ve Kisspeptin Nöronları

12. Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Bewick GA, Stamp GW, Curtis AE, Cooke JH, Jethwa PH, Todd JF, Ghatei MA, Bloom SR. Chronic subcutaneous administration of kisspeptin-54 causes testicular degeneration in adult male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291:1074–82.
13. Plant TM. The role of KiSS-1 in the regulation of puberty in higher primates. *Eur J Endocrinol* 2006;155:11–6.
14. Colledge WH. GPR54 and puberty. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15:448–53.
15. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:10972–6.
16. Semple RK, Achermann JC, Ellery J, Farooqi IS, Karet FE, Stanhope RG, O'rahilly S, Aparicio SA. Two novel missense mutations in g protein-coupled receptor 54 in a patient with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1849–55.
17. Cerrato F, Shagoury J, Kralickova M, Dwyer A, Falardeau J, Ozata M, Van VG, Bouloux P, Hall JE, Hayes FJ, Pitteloud N, Martin KA, Welt C, Seminara SB. Coding sequence analysis of GNRHR and GPR54 in patients with congenital and adult-onset forms of hypogonadotropic hypogonadism. *Eur J Endocrinol* 2006;155:3–10.
18. Chan YM, Broder-Fingert S, Seminara SB. Reproductive functions of kisspeptin and Gpr54 across the life cycle of mice and men. *Peptides* 2009;30:42–8.
19. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, Seminara SB, Mendonca BB, Kaiser UB, Latronico AC. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. *N Engl J Med* 2008;358:709–15.
20. Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Thresher RR, Malinge I, Lomet D, Carlton MB, Colledge WH, Caraty A, Aparicio SA. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:1761–6.
21. Matsui H, Takatsu Y, Kumano S, Matsumoto H, Ohtaki T. Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;320:383–8.
22. Navarro VM, Castellano JM, Fernández-Fernández R, Tovar S, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Piniella L, Tena-Sempere M. Effects of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 2005;146:1689–97.
23. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:2129–34.
24. Herbison AE. Physiology of the gonadotropin-releasing hormone neuronal network. In: Neill JD (ed). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3rd edition. Academic Press, 2006. 1415–82.
25. Colledge WH. Kisspeptins and GnRH neuronal signalling. *Trends Endocrinol Metab* 2009;20:115–21.
26. Thompson EL, Patterson M, Murphy KG, Smith KL, Dhillon WS, Todd JF, Ghatei MA, Bloom SR. Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol* 2004;16:850–8.
27. Caraty A, Smith JT, Lomet D, Ben Saïd S, Morrissey A, Coghlan J, Doughton B, Baril G, Briant C, Clarke IJ. Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology* 2007;148:5258–67.
28. Seminara SB, Dipietro MJ, Ramaswamy S, Crowley WF Jr, Plant TM. Continuous human metastin 45-54 infusion desensitizes G protein-coupled receptor 54-induced gonadotropin-releasing hormone release monitored indirectly in the juvenile male Rhesus monkey (*Macaca mulatta*): a finding with therapeutic implications. *Endocrinology* 2006;147:2122–6.
29. Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, Nijher GK, Amber V, Kokkinos A, Donaldson M, Ghatei MA, Bloom SR. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:3958–66.
30. d'Anglemont de Tassigny X, Fagg LA, Carlton MB, Colledge WH. Kisspeptin can stimulate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release by a direct action at GnRH nerve terminals. *Endocrinology* 2008;149:3926–32.
31. Herbison AE. Estrogen positive feedback to gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons in the rodent: the case for the rostral periventricular area of the third ventricle (RP3V). *Brain Res Rev* 2008;57:277–87.
32. Franceschini I, Lomet D, Cateau M, Delsol G, Tillet Y, Caraty A. Kisspeptin immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha. *Neurosci Lett* 2006;401:225–30.
33. Smith JT, Acohido BV, Clifton DK, Steiner RA. KiSS-1 neurons are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *J Neuroendocrinol* 2006;18:298–303.
34. Smith JT, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. *Reproduction* 2006;131:623–30.
35. Simonneaux V, Ansel L, Revel FG, Klosen P, Pévet P, Mikkelsen JD. Kisspeptin and the seasonal control of reproduction in hamsters. *Peptides* 2009;30:146–53.
36. Backholer K, Smith JT, Rao A, Pereira A, Iqbal J, Ogawa S, Li Q, Clarke IJ. Kisspeptin cells in the ewe brain respond to leptin and communicate with neuropeptide Y and proopiomelanocortin cells. *Endocrinology* 2010;151:2233–43.
37. Kafa İM, Eyigör Ö. Kisspeptin nöronlarının sıçan hipotalamusundaki dağılımlarının ve hipotalamik çekirdeklerdeki yoğunluklarının belirlenmesi. *Uluslararası Katılımlı X. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Kongre özet kitabı, İzmir, Türkiye, Mayıs 2010, 113.*
38. Clarkson J, d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH, Caraty A, Herbison AE. Distribution of kisspeptin neurons in the adult female mouse brain. *J Neuroendocrinol* 2009;21:673–82.
39. Smith JT, Li Q, Pereira A, Clarke IJ. Kisspeptin neurons in the ovine arcuate nucleus and preoptic area are involved in the preovulatory luteinizing hormone surge. *Endocrinology* 2009;150:5530–8.
40. Pompolo S, Pereira A, Estrada KM, Clarke IJ. Colocalization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone in the ovine brain. *Endocrinology* 2006;147:804–10.
41. Decourt C, Tillet Y, Caraty A, Franceschini I, Briant C. Kisspeptin immunoreactive neurons in the equine hypothalamus: Interactions with GnRH neuronal system. *J Chem Neuroanat* 2008;36:131–7.
42. Rometo AM, Krajewski SJ, Voytko ML, Rance NE. Hypertrophy and increased kisspeptin gene expression in the hypothalamic infundibular nucleus of postmenopausal women and ovariectomized monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2744–50.
43. Brailoiu GC, Dun SL, Ohsawa M, Yin D, Yang J, Chang JK, Brailoiu E, Dun NJ. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain. *J Comp Neurol* 2005;481:314–29.
44. Adachi S, Yamada S, Takatsu Y, Matsui H, Kinoshita M, Takase K, Sugiura H, Ohtaki T, Matsumoto H, Uenoyama Y, Tsukamura H, Inoue K, Maeda K. Involvement of anteroventral periventricular metastin/kisspeptin neurons in estrogen positive feedback action on luteinizing hormone release in female rats. *J Reprod Dev* 2007;53:367–78.

45. Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 2006;147:5817–25.
46. Kauffman AS, Gottsch ML, Roa J, Byquist AC, Crown A, Clifton DK, Hoffman GE, Steiner RA, Tena-Sempere M. Sexual differentiation of Kiss1 gene expression in the brain of the rat. *Endocrinology* 2007;148:1774–83.
47. Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology* 2005 ;146:3686–92.
48. Greives TJ, Mason AO, Scotti MA, Levine J, Ketterson ED, Kriegsfeld LJ, Demas GE. Environmental control of kisspeptin: implications for seasonal reproduction. *Endocrinology* 2007;148:1158–66.
49. Revel FG, Saboureaux M, Masson-Pévet M, Pévet P, Mikkelsen JD, Simonneaux V. Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamsters. *Curr Biol* 2006;16:1730–5.
50. Goodman RL, Lehman MN, Smith JT, Coolen LM, de Oliveira CV, Jafarzadehshirazi MR, Pereira A, Iqbal J, Caraty A, Ciofi P, Clarke IJ. Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology* 2007;148:5752–60.
51. Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, Yamada S, Inoue K, Ohtaki T, Matsumoto H, Maeda K. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology* 2005;146:4431–6.
52. Dun SL, Brailoiu GC, Parsons A, Yang J, Zeng Q, Chen X, Chang JK, Dun NJ. Metastin-like immunoreactivity in the rat medulla oblongata and spinal cord. *Neurosci Lett* 2003;335:197–201.
53. Mikkelsen JD, Simonneaux V. The neuroanatomy of the kisspeptin system in the mammalian brain. *Peptides*. 2009;30:26–33.
54. Tsutsui K, Bentley GE, Kriegsfeld LJ, Osugi T, Seong JY, Vaudry H. Discovery and evolutionary history of gonadotrophin-inhibitory hormone and kisspeptin: new key neuropeptides controlling reproduction. *J Neuroendocrinol* 2010;22:716-727.
55. Smith JT, Clarke IJ. Kisspeptin expression in the brain: catalyst for the initiation of puberty. *Rev Endocr Metab Disord* 2007;8:1-9.
56. Roseweir AK, Millar RP. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum Reprod Update* 2009;15:203-212