ZEHRA SELEN MUTLU HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ 2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ
ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANA BİLİM DALI

PREMATÜR OVER YETMEZLİĞİ MODELİNDE DEHİDROEPİANDROSTERONUN GNRH REGÜLASYONUNA ETKİSİ: HİPOTALAMİK PEPTİD- RESEPTÖR EKSPRESYON PROFİLİ

ZEHRA SELEN MUTLU

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

BURSA-2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

PREMATÜR OVER YETMEZLİĞİ MODELİNDE DEHİDROEPİANDROSTERONUN GNRH REGÜLASYONUNA ETKİSİ: HİPOTALAMİK PEPTİD- RESEPTÖR EKSPRESYON PROFİLİ

Zehra Selen MUTLU

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:
Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKIR

BURSA-2025

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum **"Prematür Over Yetmezliği Modelinde Dehidroepiandrosteronun GnRH Regülasyonuna Etkisi: Hipotalamik Peptid-Reseptör Ekspresyon Profili"** adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Zehra Selen MUTLU
Tarih ve İmza

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

...../...../.....

Adı Soyadı: Zehra Selen MUTLU
Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji
Tez Konusu: Prematür Over Yetmezliği Modelinde Dehidroepiandrosteronun GnRH Regülasyonuna Etkisi: Hipotalamik Peptid-Reseptör Ekspresyon Profili

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	AÇIKLAMA
Tezin Boyutları	■	❑	
Dış Kapak Sayfası	■	❑	
İç Kapak Sayfası	■	❑	
Kabul Onay Sayfası	■	❑	
Sayfa Düzeni	■	❑	
İçindekiler Sayfası	■	❑	
Yazı Karakteri	■	❑	
Satır Aralıkları	■	❑	
Başlıklar	■	❑	
Sayfa Numaraları	■	❑	
Eklerin Yerleştirilmesi	■	❑	
Tabloların Yerleştirilmesi	■	❑	
Kaynaklar	■	❑	

DANIŞMAN ONAYI

Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKIR
İmza:

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN....II
KABUL ONAY SAYFASI III
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU....IV
İÇİNDEKİLER....V
TÜRKÇE ÖZET....X
İNGİLİZCE ÖZET....XI
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ……..XII
1.GİRİŞ....1
2.GENEL BİLGİLER....3
2.1.Beyin....3
2.1.1.Serebrum (ön beyin)....4
2.1.2.Diensefalon....4
2.1.3.Beyin sapı....5
2.1.4.Serebellum....5
2.2.Hipotalamus....5
2.2.1.Hipotalamus anatomisi....5
2.2.1.1.Hipotalamik çekirdekler ve işlevleri....6
2.2.1.2.Sıçanlarda hipotalamus anatomisi....7
2.2.2.Hipotalamus histolojisi....10
2.2.3.Hipotalamus fizyolojisi.... 11
2.3.Hipotalamusta Üremeyle İlişkili Nöropeptidler....13
2.3.1.Hipotalamik uyarıcı nöropeptidler....14
2.3.1.1.Kisspeptin....14
2.3.1.1.1.Kisspeptinin tanımı ve tarihçesi....14
2.3.1.1.2.Kisspeptinin moleküler yapısı....14
2.3.1.1.3.Kisspeptinin reseptörleri ve bulunduğu dokular....15
2.3.1.1.4.Kisspeptinin sinyal yolakları....16
2.3.1.1.5.Kisspeptin ve HPG ekseni....17
2.3.1.1.6.Kisspeptin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller....18
2.3.1.1.7.Kisspeptin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller....19
2.3.1.1.8.Kisspeptin ve POY....19
2.3.1.2.Galanin....20
2.3.1.2.1.Galaninin tanımı ve tarihçesi....20
2.3.1.2.2.Galaninin moleküler yapısı....21
2.3.1.2.3.Galanin reseptörleri ve sinyal yolakları....21
2.3.1.2.4.Galaninin fonksiyonları....22
2.3.1.2.5.Galanin ve HPG ekseni....23
2.3.1.2.6.Galanin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller....24
2.3.1.2.7.Galanin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller....24
2.3.1.2.8.Galanin ve POY....25
2.3.1.3.α-melanosit uyarıcı hormon (α-MSH)....25
2.3.1.3.1.α-MSH'nin tanımı ve tarihçesi....25

2.3.1.3.2.α-MSH'nin moleküler yapısı.....26
2.3.1.3.3.α-MSH reseptörleri ve sinyal yolakları.....26
2.3.1.3.4.α-MSH'nin fonksiyonları.....27
2.3.1.3.5.α-MSH ve HPG ekseni.....28
2.3.1.3.6.α-MSH ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller.....29
2.3.1.3.7.α-MSH ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....30
2.3.1.3.8.α-MSH ve POY.....30
2.3.1.4.Leptin 31
2.3.1.4.1.Leptinin tanımı ve tarihçesi.....31
2.3.1.4.2.Leptinin moleküler yapısı.....32
2.3.1.4.3.Leptin reseptörleri ve sinyal yolakları.....32
2.3.1.4.4.Leptinin fonksiyonları.....33
2.3.1.4.5.Leptin ve HPG ekseni.....34
2.3.1.4.6.Leptin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller…….....35
2.3.1.4.7.Leptin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....36
2.3.1.4.8.Leptin ve POY.....36
2.3.1.5.Glutamat.....36
2.3.1.5.1.Glutamatın tanımı ve tarihçesi.....36
2.3.1.5.2.Glutamatın moleküler yapısı.....37
2.3.1.5.3.Glutamat reseptörleri ve sinyal yolakları.....37
2.3.1.5.4.Glutamatın fonksiyonları.....39
2.3.1.5.5.Glutamat ve HPG ekseni.....39
2.3.1.5.6.Glutamat ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller.....40
2.3.1.5.7.Glutamat ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....40
2.3.1.5.8.Glutamat ve POY.....40
2.3.2.Hipotalamik baskılayıcı nöropeptidler.....40
2.3.2.1.Nöropeptid Y.....40
2.3.2.1.1.NPY'nin tanımı ve tarihçesi.....40
2.3.2.1.2.NPY'nin moleküler yapısı.....41
2.3.2.1.3.NPY reseptörleri 42
2.3.2.1.4.NPY'nin fonksiyonları.....42
2.3.2.1.5.NPY ve HPG ekseni.....43
2.3.2.1.6.NPY ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller.....44
2.3.2.1.7.NPY ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....44
2.3.2.1.8.NPY ve POY.....45
2.3.2.2.Dinorfin.....46
2.3.2.2.1.Dinorfinin tanımı ve tarihçesi.....46
2.3.2.2.2.Dinorfinin moleküler yapısı.....46
2.3.2.2.3.Dinorfin reseptörleri ve sinyal yolakları.....46
2.3.2.2.4.Dinorfinin fonksiyonları.....48
2.3.2.2.5.Dinorfin ve HPG ekseni.....49
2.3.2.2.6.Dinorfin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller.....49
2.3.2.2.7.Dinorfin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....49
2.3.2.2.8.Dinorfin ve POY.....50
2.3.2.3.RF-amid ilişkili peptid (RFRP) 50
2.3.2.3.1.RFRP'nin tanımı ve tarihçesi.....50
2.3.2.3.2.RFRP'nin moleküler yapısı.....50
2.3.2.3.3.RFRP reseptörleri ve sinyal yolakları.....51

2.3.2.3.4.RFRP'nin fonksiyonları.....52
2.3.2.3.5.RFRP ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller.....54
2.3.2.3.6.RFRP ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....54
2.3.2.3.7.RFRP ve POY.....54
2.3.2.4.GABA 55
2.3.2.4.1.GABA'nın tanımı ve tarihçesi.....55
2.3.2.4.2.GABA'nın moleküler yapısı.....56
2.3.2.4.3.GABA reseptörleri ve sinyal yolakları.....56
2.3.2.4.4.GABA'nın fonksiyonları.....58
2.3.2.4.5.GABA ve HPG ekseni.....58
2.3.2.4.6.GABA ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller.....59
2.3.2.4.7.GABA ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller.....60
2.3.2.4.8.GABA ve POY.....60
2.4.Prematür Over Yetmezliği 60
2.4.1.POY ve infertilite.....60
2.4.2.POY'de HPG ekseni.....61
2.4.3.POY'de ovaryum histolojisi.....61
2.5.POY Hayvan Modelleri.....63
2.5.1.Siklofosfamid (CTX) modeli.....63
2.5.2.VCD (4-vinilsikloheksen diepoksit) modeli.....63
2.5.3.Sisplatinle indüklenen POY modeli.....63
2.5.4.D-Galaktoz ile indüklenen POY modeli.....64
2.5.5.Ovaryum iskemisi-reperfüzyonu.....64
2.6.POY'de DHEA Kullanımı.....64
2.7. Çalışmanın Amacı.....65
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....66
3.1.Deney Hayvanları.....66
3.2.Deney Grupları.....66
3.3.Kan Örneklerinin Alınması.....67
3.4.ELISA.....67
3.5.Kimyasal Maddelerin Uygulanması.....67
3.6.VCD ile POY Hayvan Modeli Oluşturulması.....68
3.7.DHEA'nın Etkisinin Araştırılması.....68
3.8.Vajinal Smear ile Östrus Siklus Evrelerinin Saptanma.....69
3.9.Deneklerin Sakrifikasyonu ve Doku Eldesi.....70
3.10.Gen Ekspresyon Analizi 71
3.10.1.Gen seçim gerekçeleri.....72
3.10.2.RNA izolasyonu.....72
3.10.3.RNA saflık tayini.....73
3.10.4.cDNA eldesi.....73
3.10.5.Primer dizaynı.....74
3.10.6.Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR).....76
3.11. İstatistiksel Analiz.....76
4. BULGULAR.....78
4.1.ELISA.....78
4.2.Gen Ekspresyon Analizi.....78
4.2.1.Kisspeptin ve KISS1R ekspresyon seviyeleri.....79
4.2.1.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon

seviyeleri.....79
4.2.1.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri.....80
4.2.1.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri.....82
4.2.2.Galanin ve GALR1 ekspresyon seviyeleri.....84
4.2.2.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri.....84
4.2.2.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri.....86
4.2.2.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri.....88
4.2.3.α-MSH ve MC4R ekspresyon seviyeleri.....90
4.2.3.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri.....90
4.2.3.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri.....92
4.2.3.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri.....94
4.2.4.Leptin ve Ob-R ekspresyon seviyeleri.....96
4.2.4.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri.....96
4.2.4.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri.....98
4.2.4.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri.....100
4.2.5.Glutamat ve GluA1 ekspresyon seviyeleri.....102
4.2.5.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri.....102
4.2.5.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri.....104
4.2.5.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri.....106
4.2.6.Nöropeptid Y ve Y1R ekspresyon seviyeleri.....108
4.2.6.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri.....108
4.2.6.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri.....110
4.2.6.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri.....112
4.2.7.Dinorfin ve KOR ekspresyon seviyeleri.....114
4.2.7.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri.....114
4.2.7.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri.....116
4.2.7.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri.....118
4.2.8.RFRP ve GPR147 ekspresyon seviyeleri.....119

4.2.8.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri 119
4.2.8.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri..... 121
4.2.8.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri..... 123
4.2.9.GABA ve $GABA_A$ ekspresyon seviyeleri..... 125
4.2.9.1.Kontrol, POY ve NOR deneklerin GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri..... 125
4.2.9.2.POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri..... 127
4.2.9.3.NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri..... 129
5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... 132
5.1.ELISA ile POY Modelinin Doğrulanması..... 132
5.2.POY Modelinin ve DHEA'nın Kisspeptin ve KISS1R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 133
5.3.POY Modelinin ve DHEA'nın Galanin ve GALR1 Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 135
5.4.POY Modelinin ve DHEA'nın α-MSH ve MC4R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 137
5.5.POY Modelinin ve DHEA'nın Leptin ve Ob-R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 139
5.6.POY Modelinin ve DHEA'nın Glutamat ve GluA1 Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 141
5.7.POY Modelinin ve DHEA'nın Nöropeptid Y ve Y1R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 142
5.8.POY Modelinin ve DHEA'nın Dinorfin ve KOR Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 144
5.9.POY Modelinin ve DHEA'nın RFRP ve GPR147 Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 145
5.10.POY Modelinin ve DHEA'nın GABA ve $GABA_A$ Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi..... 147
5.11.Sonuç..... 148
6.KAYNAKLAR..... 150
7.SİMGELER VE KISALTMALAR..... 176
8.EKLER..... 179
9.TEŞEKKÜR..... 180
10.ÖZGEÇMİŞ..... 181

TÜRKÇE ÖZET

Prematür over yetmezliği (POY), 40 yaşından önce ovaryum fonksiyonlarının bozulmasıyla karakterize edilen ve infertiliteye yol açan önemli bir klinik durumdur. Dehidroepiandrosteron (DHEA), POY hastalarında ovaryum fonksiyonlarını ve in vitro fertilizasyon (IVF) başarı oranlarını artırma potansiyeline sahiptir. Bu çalışmanın amacı, POY modeli oluşturulan sıçanlarda DHEA'nın hipotalamus-hipofiz-gonad (HPG) ekseni üzerindeki etkilerini ve bu etkinin altında yatan mekanizmaları ortaya koymaktır.

Bu amaçla, 49 dişi Sprague-Dawley sıçan kontrol (n=7), VCD (n=7), VCD+DHEA (n=7), VCD+DMSO (n=7), DMSO (n=7), DMSO+DHEA (n=7) ve DMSO+DMSO (n=7) olmak üzere yedi gruba ayrıldı. POY modeli, 15 gün süreyle 160 mg/kg subkutan VCD enjeksiyonu ile oluşturuldu. Normal over rezervi grubuna ise sadece DMSO uygulandı. POY modelinin doğrulanması için 1. ve 15. günlerde anti-müllerian hormon (AMH) düzeyleri, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemiyle ölçüldü. Daha sonra, belirli gruplara 45 gün boyunca 60 mg/kg/sc dozunda DHEA verildi. Deney sonunda sıçanlar sakrifiye edilerek hipotalamus dokuları izole edilerek, gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) yöntemiyle nöropeptid ve reseptörlerine ait gen ekspresyon düzeyleri analiz edildi.

POY modelinde hipotalamusta; kisspeptin, galanin, melanokortin, leptin, glutamat gibi uyarıcı nöropeptidlerin düzeyleri azalırken, nöropeptid Y, dinorfin, RFRP, GABA gibi baskılayıcı nöropeptidlerin ifadesinde artış gözlemlendi. DHEA tedavisinin, bu dengesizliği tersine çevirerek uyarıcıları artırdığı, baskılayıcıları azalttığı görüldü.

Sonuç olarak; VCD kaynaklı POY sıçan modelinde HPG ekseninde meydana gelen değişimlerin, DHEA ile düzenlenebileceği bulundu. DHEA'nın HPG ekseni üzerinde direkt etki gösteren nöropeptidler üzerinde etkili olduğu, ancak melanokortin, leptin, dinorfin, RFRP gibi bazı metabolik bağlantılı peptid ve reseptörlerde etkisiz kaldığı görüldü. Bulgular, DHEA'nın hipotalamik nöropeptid sistemleri üzerinde seçici etkiler gösterdiğini ve GnRH salınımı ile ilgili bazı yolları iyileştirebildiğini ortaya koyarak POY tedavisinde DHEA'nın olası mekanizmasına ışık tutmakta ve alandaki bilgi birikimine katkı sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: POY, DHEA, hipotalamus, nöropeptid, sıçan

İNGİLİZCE ÖZET

THE EFFECT OF DEHYDROEPIANDROSTERONE ON GNRH REGULATION İN A PREMATURE OVARIAN INSUFFICIENCY MODEL: HYPOTHALAMIC PEPTIDE-RECEPTOR EXPRESSION PROFILE

Premature ovarian insufficiency (POI) is a condition characterized by the deterioration of ovarian function before the age of 40 and is one of the causes of infertility. Dehydroepiandrosterone (DHEA) improves both ovarian function and in vitro fertilization (IVF) outcomes in POF patients. The aim of this study was to determine the effect and mechanism of DHEA on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis in POF cases.

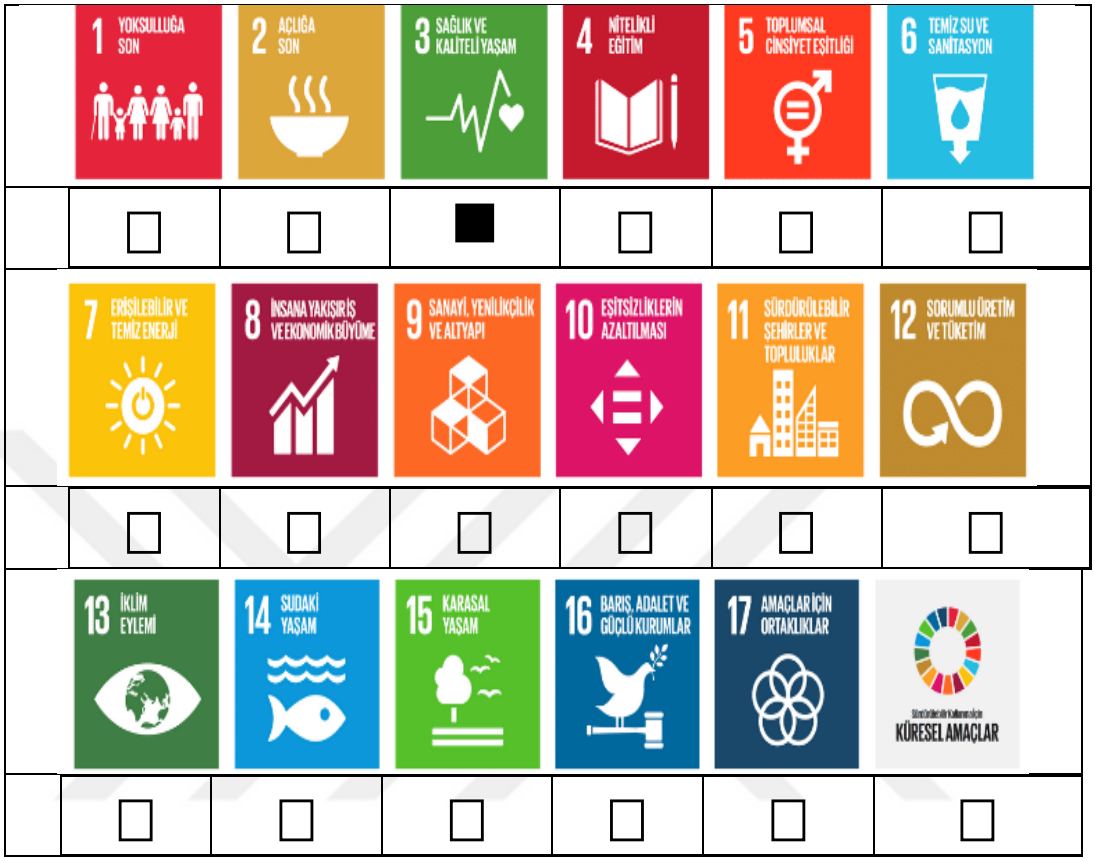
In this study, 49 female Sprague-Dawley rats were divided into 7 groups as control (n=7), 4-Vinylcyclohexene diepoxide (VCD) (n=7), VCD+DHEA (n=7), VCD+dimethyl sulfoxide (DMSO) (n=7), DMSO (n=7), DMSO+DHEA (n=7) and DMSO+DMSO (n=7). While no treatment was applied to the control group, VCD groups were injected with a dose of 160 mg/kg/sc for 15 days for the POI model. To establish the normal ovarian reserve group, only DMSO was administered for the same period. To confirm the POI model, serum anti-mullerian hormone (AMH) levels of rats were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method on days 1 and 15. Following VCD and DMSO administration, DHEA was injected with a dose of 60 mg/kg/sc to certain groups for 45 days. At the end of the experiment, the hypothalamuses of the sacrificed rats were isolated and the gene expression levels of excitatory and inhibitory neuropeptides and their receptors were analyzed in these tissues by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR).

In the hypothalamus in the POI model; while the levels of excitatory neuropeptides such as kisspeptin, galanin, melanocortin, leptin, glutamate decreased, an increase in the expression of inhibitory neuropeptides such as neuropeptide Y, dynorphin, RFRP, and GABA was observed. It was observed that DHEA treatment reversed this imbalance by increasing excitatory and decreasing inhibitory neuropeptides.

As a result; it was found that the changes in the HPG axis in the VCD-induced POI rat model could be regulated by DHEA. It was observed that DHEA was effective on neuropeptides that directly affect the HPG axis, but was ineffective on some metabolic-related peptides like melanocortin, leptin, dynorphin, RFRP and their receptors. The findings shed light on the possible mechanism of DHEA in the treatment of POI by revealing that DHEA has selective effects on hypothalamic neuropeptide systems and can improve some pathways related to GnRH release, thus contributing to the knowledge in the field.

Keywords: POI, DHEA, hypothalamus, neuropeptide, rat

BUÜ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KONUSUNUN KÜRESEL SÜRDÜRÜLEBİLİR KALKINMA HEDEFLERİ İLE İLİŞKİSİ



Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum **"Prematür Over Yetmezliği Modelinde Dehidroepiandrosteronun GnRH Regülasyonuna Etkisi: Hipotalamik Peptid-Reseptör Ekspresyon Profili"** başlıklı tez **3.** Küresel Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri ile ilişkilidir.

1. GİRİŞ

Prematür over yetmezliği (POY), 40 yaşından önce over fonksiyonunun bozulmasıyla karakterize bir durumdur; amenore, hipoöstrojenizm ve infertiliteye yol açar. POY'nin patogenezi, genellikle azalmış over rezervi ve bozulmuş hipotalamus-hipofiz-gonadal (HPG) eksen fonksiyonuyla sonuçlanan genetik, otoimmün ve çevresel faktörlerin karmaşık bir etkileşimini içerir (Goswami, & Conway, 2005). Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), HPG ekseninin kritik bir bileşenidir. Hipofizden luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasını sağlar ve böylece over folikülogenezini ve steroidogenezi düzenler (Clarke, & Pompolo, 2005).

Böbrek üstü bezleri tarafından salgılanan endojen bir steroid hormonu olan dehidroepiandrosteron (DHEA), seks steroid sentezinin öncüsü olarak rol alır, bu nedenle ovaryum disfonksiyonu için potansiyel bir terapötik ajan olarak dikkat çekmektedir (Gleicher, Weghofer, & Barad, 2010). Klinik çalışmalar, DHEA takviyesinin folikül rezervini iyileştirebileceğini ve ovaryum fonksiyonu bozulmuş kadınlarda adet döngüsünü geri getirebileceğini öne sürmektedir (Wiser ve ark., 2010). Ancak, DHEA'nın GnRH nöronal aktivitesi ve hipotalamik peptit- reseptör etkileşimleri üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmalar yeterince anlaşılamamıştır.

GnRH'nin hipotalamik düzeyde düzenlenmesi, kompleks bir nöropeptid ağı tarafından kontrol edilir. Bu ağın merkezinde yer alan kisspeptin, nörokinin B (NKB) ve dinorfin, arkuat çekirdekte (ARC) bulunan ve KNDy nöronları (Kisspeptin/Nörokinin B/Dinorfin nöronları) olarak bilinen nöronal grubu oluşturarak GnRH nöronlarının aktivitesini düzenler (Lehman, Coolen, & Goodman, 2010a). Kisspeptine ek olarak galanin (Merchenthaler, López, & Negro-Vilar, 1993), alfa-melanosit uyarıcı hormon (α-MSH) (Gottsch ve ark., 2004), leptin (Smith, Acohido, Clifton, & Steiner, 2006a), glutamat (Brann & Mahesh, 1994), nörotensin (Dungan ve ark., 2010) ve substance P (Ohtsuka ve ark., 1987) gibi nöropeptidler de GnRH nöronları üzerinde uyarıcı etki gösterir. Buna karşın, nöropeptid Y (NPY)

(Kalra ve ark., 1999), dinorfin (Lehman ve ark., 2010a), RF- amid ilişkili peptid (RFRP) (Tsutsui ve ark., 2000), gama- aminobütirik asit (GABA) (Herbison & Moenter, 2011), beta-endorfin (Horton, Francis, & Clarke, 1989), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) (Vale, Spiess, Rivier, & Rivier, 1981) gibi peptidler ise baskılayıcı sinyaller aracılığıyla GnRH salınımını inhibe eder. Bu nöropeptidlerin aktivitesi enerji dengesi, stres, çevresel koşullar, üreme dönemi gibi fizyolojik sinyallere bağlı olarak değişkenlik gösterir ve HPG aksının düzgün işleyişi için kritik öneme sahiptir.

Bu nöropeptitlerin ve reseptörlerinin ifadesindeki değişiklikler, POY'de HPG ekseninin düzensizliğine katkıda bulunabilir. DHEA'nın nöroaktif özellikleri ve merkezi üreme yollarını etkileme potansiyeli göz önüne alındığında, hipotalamik GnRH düzenleyici mekanizmalar üzerindeki etkisini araştırmak, POY'deki terapötik potansiyelini anlamak için çok önemlidir.

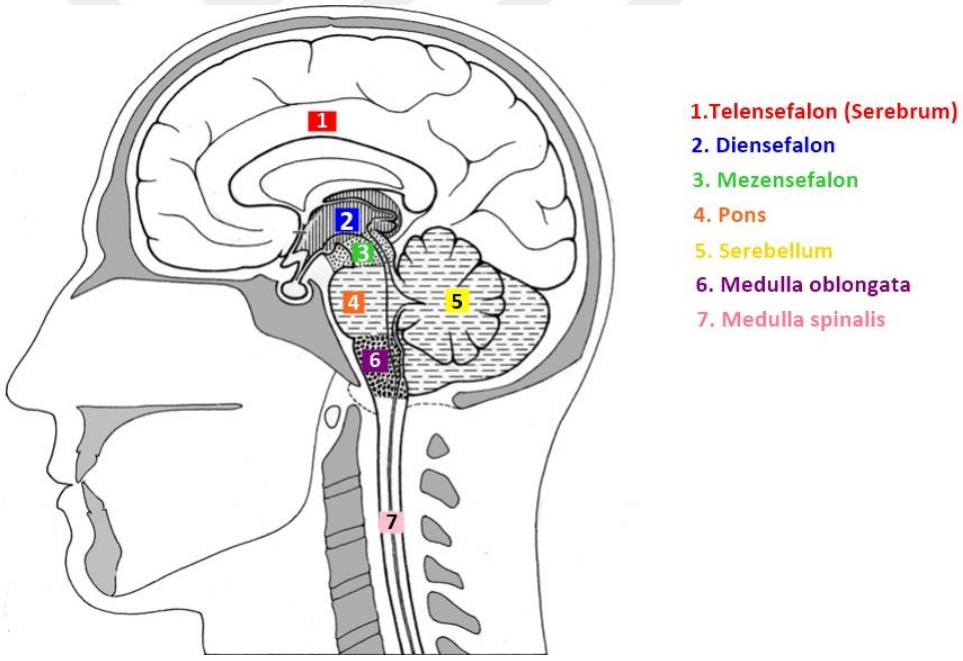
Bu çalışma, VCD ile oluşturulan POY modelinde, DHEA'nın GnRH düzenlemesi üzerindeki etkilerini, uyarıcı (kisspeptin, galanin, α-MSH, leptin, glutamat) ve baskılayıcı (NPY, dinorfin, RFRP, GABA) hipotalamik peptitlerin ve reseptörlerinin ifade profillerine odaklanarak değerlendirmeyi amaçlamaktadır. DHEA uygulamasının, bu nöropeptitlerin ifadesini değiştirerek GnRH salgılanmasını düzenlediği ve böylece HPG ekseninin işlevini geri kazandırdığı düşünülmektedir. Bu mekanizmaların açıklığa kavuşturulması, DHEA'nın POY'deki terapötik rolüne ilişkin yeni bakış açıları sağlayabilir ve over yetmezliği için hedefli tedavilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.

2. GENEL BİLGİLER

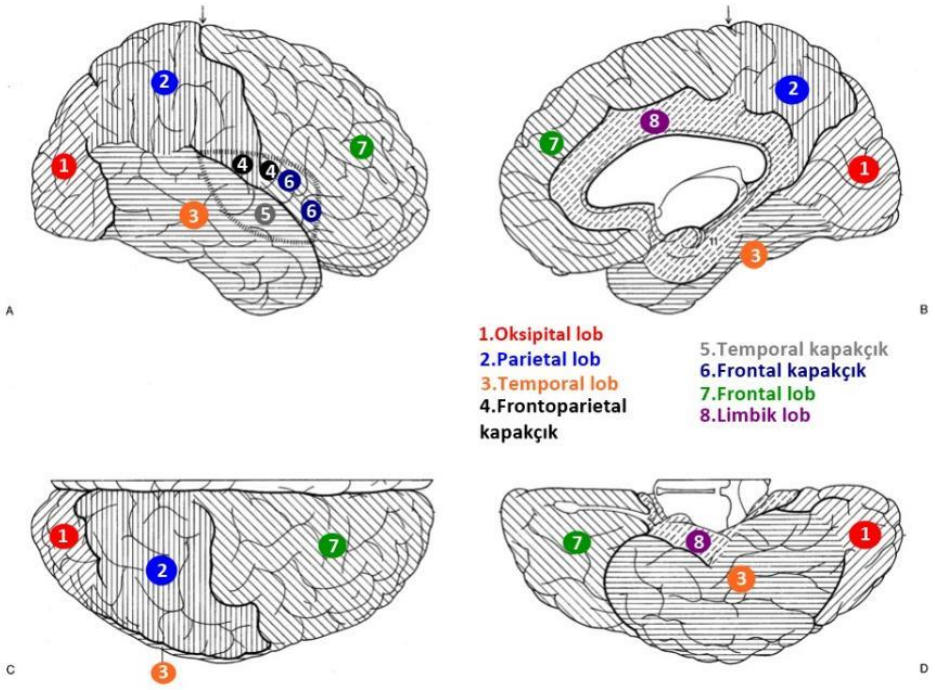
2.1. Beyin

İnsan beyni, vücuttaki en karmaşık organlardan biridir, sinir sisteminin komuta merkezi olarak çalışır. Bilişsel, duyusal ve motor işlevleri düzenler. Milyarlarca nöron ve glial hücreden oluşan beyin; temel homeostaz, akıl yürütme, hafıza ve duygu gibi daha yüksek düzeyli süreçlere kadar tüm yaşamsal fonksiyonları düzenler (Kandel, Koester, Mack, & Siegelbaum, 2021).

İnsan beyni, her biri özel işlevlere sahip farklı bölgelerden oluşan, organize bir organdır. Genel olarak serebrum, serebellum ve beyin sapından (Şekil 1) oluşur ve diensefalon ve bazal ganglionlar gibi derin yapılara bölünmüştür. Bu yapılar bilişsel işlevler, hareket, duyu ve otonomik işlevleri düzenlemek için birlikte çalışır (Nieuwenhuys, Voogd, & Huijzen, 2008).



Şekil 1. Beynin medial görünümü (Nieuwenhuys ve ark., 2008)



Şekil 2.Sağ serebral yarımküre. (A) lateral görünüm; (B) medial görünüm; (C) superior görünüm; (D) inferior görünüm (Nieuwenhuys ve ark., 2008)

2.1.1. Serebrum (ön beyin)

Serebrum, beynin en büyük ve en belirgin bölgesidir. Sağ ve sol yarım küreye ayrılır ve korpus kallozum bu iki yarım küreyi birbirine bağlar. Yarım küreler dört lobdan (Şekil 2) oluşur.

Frontal lob, beynin ön tarafında yer alır ve yönetici işlevleri (karar verme, planlama), motor kontrolü (birincil motor korteks aracılığıyla) ve konuşmayı (Broca alanı) yönetir.

Parietal lob, duyusal bilgileri somatosensoriyel korteks aracılığıyla işler ve mekansal farkındalık ile koordine eder.

Temporal lob, işitsel işleme, hafıza oluşumu (hipokampus) ve dilin anlaşılmasında (Wernicke alanı) rol oynar.

Oksipital lob, birincil görsel korteksi (V1) içeren görsel işleme merkezidir.

2.1.2. Diensefalon

Beynin altında bulunur ve talamus, hipotalamus ve epitalamusu bulundurur. Talamus, kortekse, koku hariç duyusal ve motor sinyalleri iletmek için bir röle

istasyonu görevi görür (Nieuwenhuys ve ark., 2008). Hipotalamus, homeostazisi, hormon salgılanmasını (hipofiz bezi aracılığıyla), açlığı ve sirkadiyen ritimleri düzenler (Saper, & Lowell, 2014). Epitalamus ise melatonin salgılayan pineal (epifiz) bezi içerir ve sirkadiyen ritimleri düzenler.

2.1.3. Beyin sapı

Beyin sapı, serebrumu omuriliğe bağlar ve orta beyin (mezensefalon), pons ve medulla oblongatadan oluşur. Orta beyin, görsel ve işitsel refleksleri ve substantia nigra'yı (parkinson hastalığında kritik olan dopamin üretiminin gerçekleştiği yer) içerir. Pons, serebrum ve serebellum arasındaki iletişimi sağlar ve solunumu düzenler. Medulla oblongata, hayati otonomik fonksiyonları (kalp hızı, kan basıncı, kusma vb.) kontrol eder.

2.1.4. Serebellum

Beyin sapının arkasında bulunan serebellum, istemli hareketleri, dengeyi ve motor öğrenmeyi koordine eder. Serebellumda bulunan vermis (orta hat), duruşu düzenler (Nieuwenhuys ve ark., 2008), lateral hemisferler ise beceri gerektiren hareketleri (piyano çalmak gibi) ince bir şekilde ayarlar (Glickstein, & Doron, 2008).

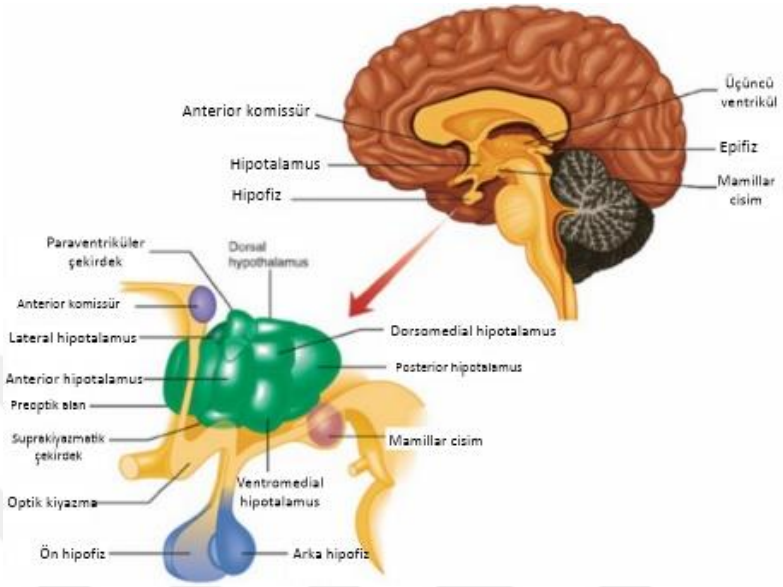
2.2. Hipotalamus

4- 5 gram ağırlığındaki diensefalik bir yapı olan hipotalamus, fizyolojik dengeyi korumak için otonomik, endokrin ve davranışsal tepkileri entegre eder ve homeostazın ana düzenleyicisi olarak rol alır (Saper, & Lowell, 2014). Talamusun altında yer alan ve üçüncü ventrikülün duvarlarını oluşturan bu küçük ama güçlü yapı, hipofiz bezini kontrol ederek sinir ve endokrin sistemleri arasında bir köprü görevi görür. Termoregülasyondan üremeye kadar birçok fizyolojik işlevi düzenleyen, özel nöronal popülasyonlar ve glial hücreler içeren histolojik çeşitliliğe sahiptir (Elmquist, Coppari, Balthasar, Ichinose, & Lowell, 2005).

2.2.1. Hipotalamus anatomisi

Hipotalamus, beynin tabanında bulunur ve diensefalonun ventral kısmını oluşturur (Şekil 3). Önde lamina terminalis'ten arkada mamiller cisimlere kadar uzanır

ve yanlarda optik yollar ve iç kapsülle sınırlıdır (Saper, & Lowell, 2014). Küçük boyutuna rağmen, hipotalamus, temel homeostatik süreçleri düzenleyen özel işlevlere sahip çok sayıda çekirdek (Şekil 3, Şekil 4) içerir (Gao, & Horvath, 2009)



Şekil 2. Hipotalamusun anatomisi (Gao, & Horvath., 2009)

2.2.1.1. Hipotalamik çekirdekler ve işlevleri

Suprakiyazmatik çekirdek (SCN), retinohipotalamik yol aracılığıyla doğrudan retinal girdileri alır. Diğer hipotalamik çekirdeklerle bağlantılar sağlayarak sirkadiyen ritmi düzenler.

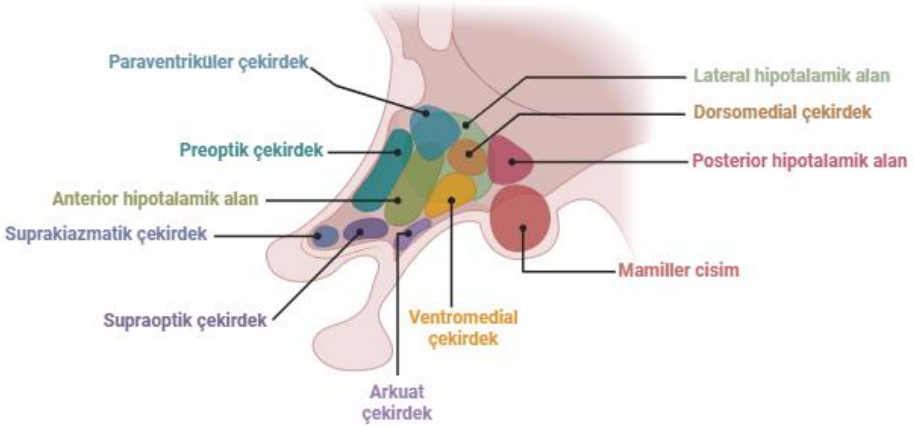
Paraventriküler çekirdek (PVN), büyük hücreli nöronlar (posterior hipofize projeksiyon yapar) ve parvoselüler nöronlar (median eminens'e projeksiyon yapar) içerir. CRH salgılanması yoluyla stres tepkisini düzenler. Beyin sapı ve omurilik projeksiyonları aracılığıyla otonomik işlevleri düzenler.

ARC, periferik metabolik sinyallere (leptin, ghrelin) duyarlı nöronlar içerir. Enerji dengesini düzenleyen POMC (pro- opiomelanokortin) ve AgRP/NPY (Agouti-ilişkili protein/ NPY) nöronlarını barındırır (Nieuwenhuys ve ark., 2008). Ayrıca üreme işlevinde önemli rol oynayan kisspeptin nöronlarını içerir (Stincic, & Kelly, 2022).

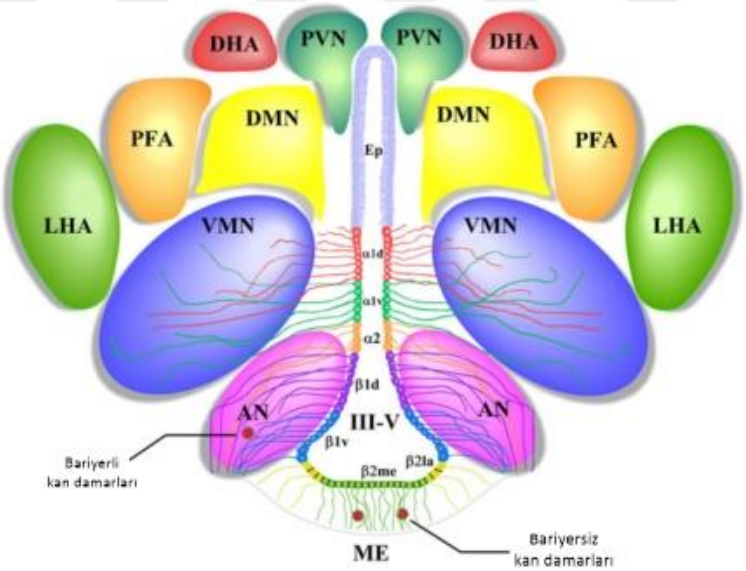
Ventromedial çekirdek (VMN), tokluk ve enerji harcanması için önemlidir. Lezyonları, hiperfaji ve obeziteye neden olur (King, 2006). Üreme davranışlarında rol oynayan, cinsel olarak dimorfik alt çekirdekler içerir (Griffin, & Flanagan-Cato,

2011).

Mamillar cisimler, limbik sistemin bir parçasıdır. Hafıza oluşumu için önemlidir (Nieuwenhuys ve ark., 2008).



Şekil 3. Hipotalamik çekirdekler (BioRender ile oluşturuldu)



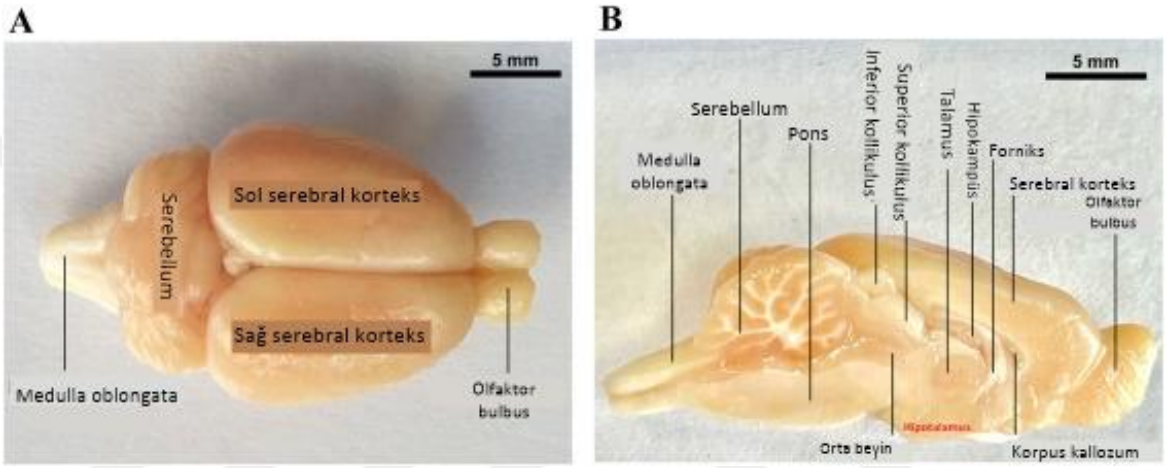
Şekil 4. Hipotalamik çekirdeklerin koronal görünümü. PVN:periventriküler nükleus, DHA: dorsal hipotalamik alan, DMN: dorsomedial nükleus, PFA: periformik alan, LHA: lateral hipotalamik alan, VMN: ventromedial nükleus, AN: anterior nükleus, III-V: 3.ventrikül, ME: median eminens (Elizondo-Vega ve ark., 2015)

2.2.1.2. Sıçanlarda hipotalamus anatomisi

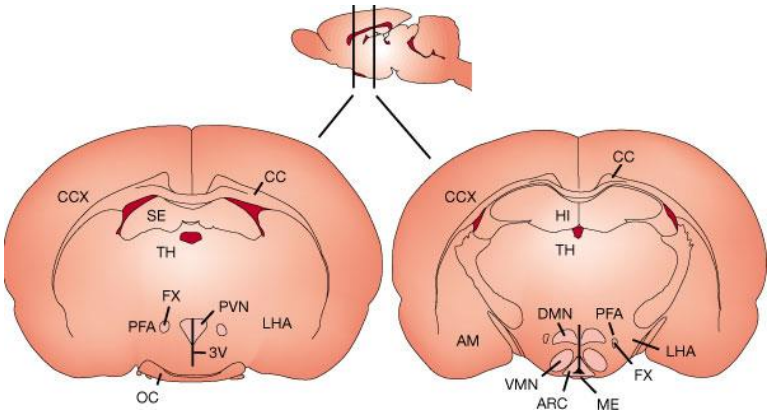
Sıçan hipotalamusu, küçük boyutlu olmasına rağmen (yaklaşık 15- 20 mm^3), homeostazın merkezi düzenleyicisi olarak görev yapar ve karmaşık bir anatomik

organizasyon gösterir (Şekil 5). Ventral diensefalonda yer alır, lamina terminalis'ten rostral olarak mamiller cisimlere kadar uzanır; dorsal olarak talamus ve ventral olarak optik kiyazma ile sınırlanır.

Sıçan hipotalamusu tipik olarak üç uzunlamasına bölgeye (periventriküler, medial ve lateral) ve dört rostrokaudal bölgeye (preoptik, anterior, tuberal ve posterior) ayrılır ve her alt bölüm, belirli fizyolojik işlevleri kontrol eden farklı çekirdekler (Şekil 6) içerir (Schröder ve ark., 2020).



Şekil 5. Yetişkin sıçan beyni. (A) Sıçan beyninin superior görünümü (B) Sıçan beyninin sol sagittal görünümü (Aboghazleh ve ark., 2023)



Şekil 6. Sıçan beyninin enine kesitinde hipotalamik alanların gösterimi. Arkuat çekirdek (ARC), forniks (FX), lateral hipotalamik alan (LHA), perifornik alan (PFA), paraventriküler nükleus (PVN), ventromedial çekirdek (VMN), dorsomedial çekirdek (DMN), amigdala (AM), korpus kallozum (CC), serebral korteks (CCX), hipokampüs (HI), median eminens (ME), optik kiazma (OC), septum (SE), talamus (TH), üçüncü ventrikü (3V) (Schwartz, Woods, Porte, Seeley, & Baskin, 2000)

Longitudinal (uzunlamasına) organizasyon, periventriküler bölge, medial bölge

ve lateral bölgeyi içerir. Periventriküler bölge, üçüncü ventriküle bitişiktir. ARC ve PVN bulunur (Armstrong, 2015; Elmquist ve ark., 2005). Medial bölge, VMN, sirkadien/metabolik sinyalleri entegre eden DMN ve üreme davranışını düzenleyen medial preoptik çekirdeği (MPN) içerir. Lateral bölge ise LHA'yı içerir ve beslenmeyi düzenleyen oreksin/MCH (melanin- konsantre edici hormon) nöronları bulunur (Sakurai, 2007).

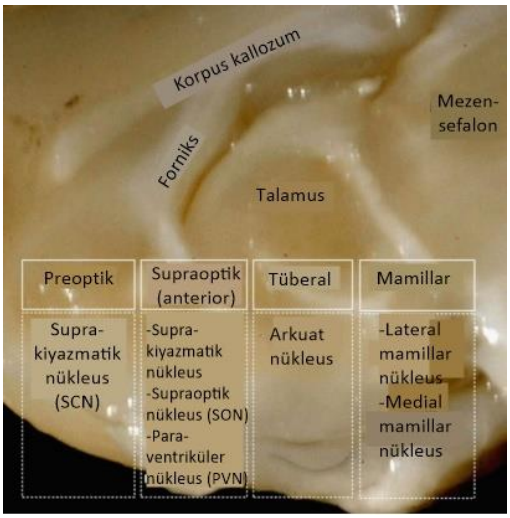
Rostrokaudal organizasyonda (Şekil 7), preoptik bölge, anterior bölge, tüberal bölge ve posterior bölge görülür.

Preoptik bölge, cinsel dimorfizm sergileyen MPN'yi içerir. Rostral sınırda yer alır ve kılcal damarları aracılığıyla ozmotik basıncın dengelenmesini sağlar (Schröder ve ark., 2020).

Anterior bölgede, sirkadiyen ritmi düzenleyen SCN (Moore, 2013), magnosellüler (vazopressin/oksitosin) ve parvosellüler (CRH, Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH)) nöronları içeren PVN ve sıkıca paketlenmiş magnosellüler nöronlar içeren supraoptik çekirdek (SON) yer alır (Armstrong, 2015).

Tüberal bölgede, ARC (Elmquist ve ark., 2005), tokluk merkezi olan VMN ve sirkadiyen ritmi düzenleyen DMN bulunur (Saper, Lu, Chou, & Gooley, 2005).

Posterior bölgede ise mamillar cisimler bulunur ve mamillar cisimler, Papez devresinin parçası olan çıkıntılardır, epizodik bellek için önemlidir (Vann, & Aggleton, 2004).



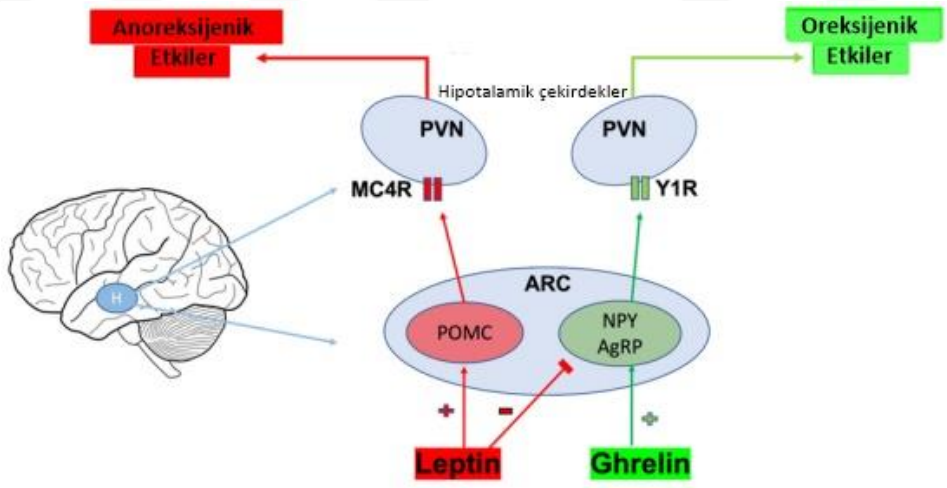
Şekil 7. Hipotalamusun rostrokaudal organizasyonu (Schröder ve ark., 2020)

2.2.2. Hipotalamus histolojisi

Hipotalamus, özel yapısal ve işlevsel özelliklere sahip çeşitli nöronal ve glial hücre tiplerinden oluşur. En belirgin nöronal popülasyonlar arasında magnoselüler ve parvoselüler nörosekresyon hücreleri bulunur. Başlıca SON ve PVN'de bulunan magnoselüler nöronlar, büyük hücrelerdir ve yüksek peptit sentez aktiviteleri vardır. Bu nöronlar, aksonlarındaki mikrotübüller boyunca taşınan ve posterior hipofizden sistemik dolaşıma salınmadan önce Herring cisimciklerinde depolanan vazopressin ve oksitosin üretir (Brown, Bains, Ludwig, & Stern, 2013).

Buna karşılık, parvoselüler nöronlar daha küçüktür ve daha fazla sayıdadır, ön hipofiz fonksiyonunu düzenleyen CRH gibi hormonları sentezlerler (Myers, Scheimann, Franco-Villanueva, & Herman, 2017).

Hipotalamus, ayrıca belirli fizyolojik fonksiyonları düzenleyen farklı peptiderjik nöron popülasyonları içerir. Bu nöronlar; ARC'de bulunan, POMC ve NPY nöronlarıdır. POMC nöronları, iştahı inhibe eder; NPY nöronları ise iştahı uyarır ve böylece enerji dengesini kontrol eden karşılıklı olarak düzenlenmiş bir devre (Şekil 8) oluşturur (Cowley ve ark., 2001).



Şekil 8. İştahı düzenleyen hipotalamik ağ (Hamamah, Hajnal, & Covasa, 2024)

Glial hücreler, hipotalamik fonksiyonda kritik roller oynar. Protoplazmik astrositler, nörovasküler bağlantının ve kan-beyin bariyerinin yapısal temelini oluşturur (García-Cáceres ve ark., 2016).

Tanisit adı verilen özelleşmiş ependimal hücreler, üçüncü ventrikülün tabanını

kaplar ve ARC'ye doğru uzanarak, beyin- omurilik sıvısından nöronlara leptin gibi metabolik sinyalleri iletmek için kanal görevi görür (Balland ve ark., 2014).

2.2.3. Hipotalamus fizyolojisi

Hipotalamus, beynin merkezi düzenleyicisi olarak görev yapar ve fizyolojik dengeyi korumak için sinirsel, endokrin ve visseral bilgileri entegre eder.

Hipotalamus, endokrin sistem üzerindeki nöroendokrin düzenleyici etkisini iki temel nörosekresyon sistemi aracılığıyla gerçekleştirir. Bu sistemlerden ilki olan magnosellüler sistem, SON ve PVN'deki büyük nöronlardan oluşur ve başlıca vazopressin ile oksitosin hormonlarının sentezinden sorumludur. Vazopressin, böbreklerdeki toplayıcı kanallar üzerinde aquaporin-2 insersiyonunu artırarak vücudun su dengesini düzenlerken; oksitosin doğum eylemi, emzirme süreci ve sosyal bağların oluşumu gibi fizyolojik ve davranışsal süreçlerde rol oynar (Brown ve ark., 2013).

İkinci sistem olan parvosellüler sistem ise, hipofizyotropik hormonlar aracılığıyla ön hipofiz bezinin işlevlerini kontrol eder. Bu sistem kapsamında; hipotalamo-hipofiz- adrenal (HPA) eksenini aktive eden CRH nöronları, metabolizmayı düzenleyen TRH nöronları, üreme fonksiyonlarını yöneten gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) nöronları ve büyümeyi etkileyen büyüme hormonu salgılatıcı hormon (GHRH) nöronları yer alır (Saper & Lowell, 2014). Ayrıca hipotalamus, sempatik ve parasempatik aktivasyonu etkileyen belirli çekirdeklerle, otonomik kontrol merkezi olarak görev yapar.

Hipotalamusta bulunan preoptik nöronlar, sıcaklığı algılar, terleme/titremeyi başlatır ve böylece termoregülasyonu sağlar.

ARC nöronları, baroreseptör entegrasyonu yoluyla kan basıncını ve kardiyovasküler fanksiyonu düzenler. Ayrıca buradaki nöronlar, bağırsak hareketliliğini ve salgısını etkiler (Saper, 2002).

Hipotalamik çekirdekler, limbik yapılarla bağlantılar yoluyla motive edilmiş davranışları da düzenler. Lateral hipotalamus, ödül devrelerine projeksiyon yapan oreksin ve MCH nöronları yoluyla beslenme davranışını düzenler (Sakurai, 2007).

SCN, ana sirkadiyen saat olarak görev yapar ve periferik ritimleri senkronize eder. Retinohipotalamik yol üzerinden retinal ışık girişiyle, melatonin salgılanır ve

uyku/uyanıklık merkezlerine sinirsel projeksiyonlar yapar, böylece sirkadiyen ritim düzenlenir (Hastings, Maywood, & Brancaccio, 2018).

Hipotalamus tarafından düzenlenen bir diğer sistem olan HPG ekseni, üreme fonksiyonunu, cinsel gelişimi ve doğurganlığı düzenleyen kritik bir nöroendokrin sistemdir. Hipotalamus, bu eksenin merkezi düzenleyicisi olarak rol alır ve GnRH salgılanmasını kontrol etmek için iç ve dış sinyalleri entegre eder; bu da hipofiz aktivitesini ve gonadal aktiviteyi düzenler (Şekil 9).

HPG ekseninin merkezini oluşturan GnRH nöronları, embriyonik gelişim sırasında koku plakodundan köken alır ve hipotalamusa göç eder, öncelikle medial preoptik alana (MPOA) ve ARC'ye yerleşir. Bu nöronlar, dağınık olarak bulunurlar (Wray, 2010). ARC'deki KNDy nöronları; kisspeptin, NKB ve dinorfin' i birlikte ifade eder ve pulsatil GnRH salınımı için kritik öneme sahiptir (Lehman ve ark., 2010a). Anteroventral periventriküler çekirdekte (AVPV) ve periventriküler çekirdekte bulunan kisspeptin nöronları, preovulatuar GnRH/LH dalgalanmasını indüklemek için östrojenin pozitif feedbackini düzenler (Clarkson ve ark., 2017). Ek olarak, GABAerjik ve glutamaterjik nöronlar, aktivitelerini düzenlemek için GnRH nöronlarıyla sinaps yapar (Lehman ve ark., 2010b).

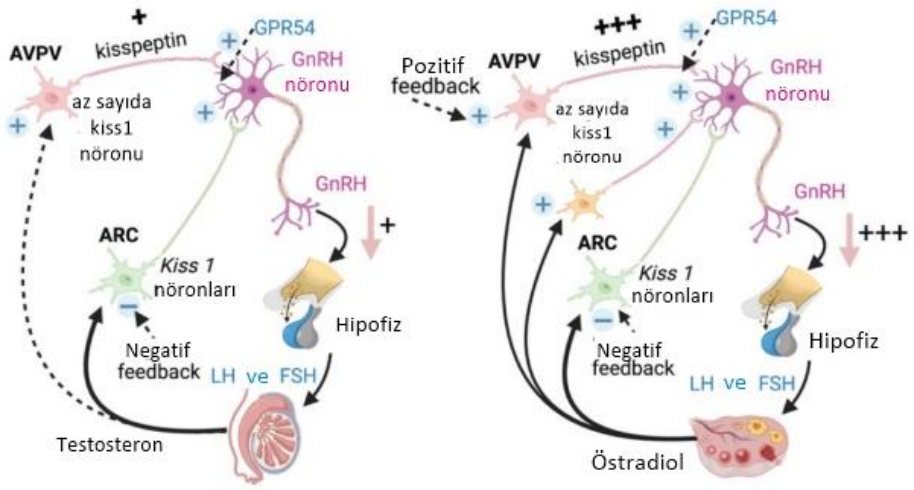
Pituiter gonadotroplar, GnRH'ye yanıt olarak LH ve FSH salgılarlar (Clarkson ve ark., 2017). LH testosteron üretimini (Leydig hücrelerinde) veya ovulasyonu (ovaryum teka/granüloza hücrelerinde) uyarırken; FSH spermatogenezi (Sertoli hücrelerinde) veya folikülogenezi (granüloza hücrelerinde) destekler (Walker, & Cheng, 2005).

Ergenlikle birlikte, artan kisspeptin sinyallemesi GnRH salgılanmasını uyarır ve ergenlik öncesi engelleyici mekanizmalar (örn. GABA, dinorfin) baskılanır. Adiposit sinyalleri (leptin), ARC kisspeptin nöronları üzerinde etki ederek ergenliğin başlangıcına izin verir (Plant, 2015b).

GnRH/LH salınımı, steroid hormonlar aracılığıyla hem negatif hem de pozitif feedback mekanizmalarıyla düzenlenir. Negatif feedback yoluyla testosteron ve östrojen, hipotalamustaki kisspeptin ve GnRH nöronlarında bulunan androjen ve östrojen reseptörleri (ER) aracılığıyla GnRH ve dolayısıyla LH salınımını baskılar (Lehman ve ark., 2010a).

Buna karşılık, pozitif feedback yalnızca kadınlarda görülür ve özellikle geç

foliküler fazda östradiol (E_2) düzeylerinin belirgin şekilde artmasıyla ortaya çıkar. Bu yüksek östradiol seviyeleri, AVPV'de bulunan kisspeptin nöronlarını uyararak ovulasyon öncesi LH zirvesini tetikler. Bu süreçte GnRH salınımındaki atım frekansı da belirleyici olur; yüksek frekanslı atımlar LH salınımını artırırken, düşük frekanslı atımlar FSH salınımını destekler (Clarkson ve ark., 2017).



Şekil 9. Kadın ve erkekte GnRH stimülasyonu (Tammasse, & Tamrin, 2023)

2.3. Hipotalamusta Üremeyle İlişkili Nöropeptidler

Hipotalamus, HPG eksenini düzenleyen nöropeptitlerin salgılanması yoluyla üremeyi kontrol etmede merkezi bir rol oynar. Bu nöropeptitler arasında, kisspeptin, GnRH nöronlarının güçlü bir uyarıcısı olarak öne çıkar ve ergenlik ile doğurganlık için gerekli olan pulsatil GnRH salınımının ana düzenleyicisi olarak görev yapar (Clarkson ve ark., 2017). Kisspeptin ile birlikte glutamat da GnRH nöronal aktivitesini artıran güçlü bir uyarıcı nörotransmitterdir (Brann & Mahesh, 1997). Öte yandan, dinorfin GnRH salınım frekansını baskılayarak bu sistemin ritmini düzenleyen önemli bir inhibitör olarak görev yapar (Goodman ve ark., 2007). NKB ve RFRP gibi diğer nöropeptitler ise GnRH salınımı üzerinde ince ayar yaparak sistemin hassas dengesini sağlar (Ducret, Anderson, & Herbison, 2009). Galanin ve leptin gibi metabolik durumla ilişkili peptitler, enerji dengesi ile üreme işlevleri arasında entegrasyon kurarken (Leibowitz, 2005; Smith ve ark., 2006a), α-MSH da leptin aracılığıyla GnRH aktivitesini destekleyen anoreksijenik bir peptit olarak rol oynar (Schiöth, & Watanobe, 2002). Bununla birlikte, NPY, özellikle enerji eksikliği durumlarında

kisspeptin sinyallemesini baskılayarak GnRH salınımını inhibe edebilir ve bu da ergenliğin gecikmesine veya fertilitenin azalmasına yol açabilir (Castellano ve ark., 2006). GABA ise gelişim dönemine ve beyin bölgesine bağlı olarak hem uyarıcı hem de baskılayıcı etkiler gösterebilir; ancak genel olarak, GnRH nöronları üzerinde inhibitör etki ile bilinir ve bu etkisiyle pulsatil salınımın modülasyonunda görev alır (Herbison, & Moenter, 2011).

Bu nöropeptitlerin düzensizliği, bozulmuş hipotalamik sinyallemenin, ovaryum disfonksiyonunu şiddetlendirebileceği POY gibi üreme bozukluklarında rol oynar (Mikhael, Punjala-Patel, & Gavrilova-Jordan, 2019). Bu nöropeptitlerin etkileşiminin anlaşılması, infertilite ve endokrin bozukluklar için potansiyel terapötik hedeflere ilişkin önemli öngörüler sunar.

2.3.1. Hipotalamik uyarıcı nöropeptidler

Kisspeptin, galanin, α-MSH, leptin ve glutamat, hipotalamik uyarıcı nörepeptidler arasında yer alır ve GnRH salınımını artırırlar.

2.3.1.1. Kisspeptin

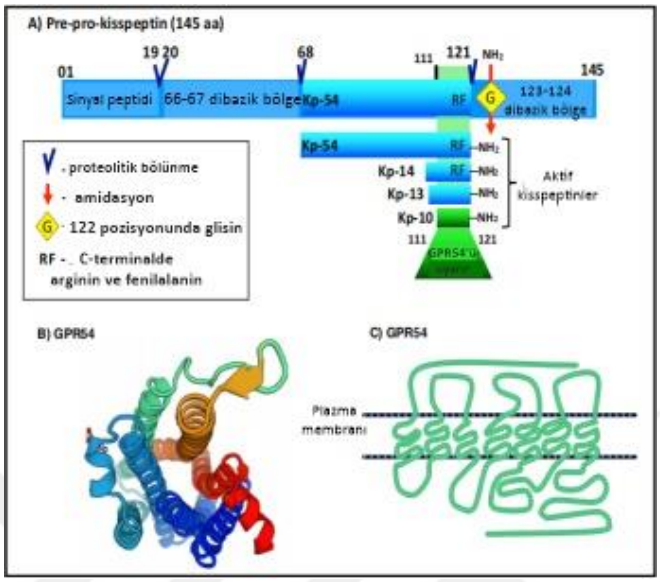
2.3.1.1.1. Kisspeptinin tanımı ve tarihçesi

Kisspeptin, KISS1 geni tarafından kodlanan bir nöropeptittir ve ilk olarak 1996 yılında Lee ve arkadaşları tarafından melanom hücrelerinde yapılan çalışamalarda metastaz baskılayıcı olarak keşfedilmiştir (Lee ve ark., 1996). Adını keşfedildiği yer olan Pensilvanya, Hershey'de, kasabadaki en ünlü yerel ürün olan 'Hershey's Kisses' adlı çikolatalardan almıştır ve kanser metastazını baskılamadaki rolü nedeniyle "metastin" olarak da bilinmektedir. Daha sonraki araştırmalar, kisspeptinin üreme fizyolojisinde, özellikle HPG ekseninin düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığını ortaya koymuştur (Oakley, Clifton, & Steiner, 2009).

2.3.1.1.2. Kisspeptinin moleküler yapısı

Kisspeptin, bir öncü protein olan prepro-kisspeptin olarak üretilir (Şekil 10). En sık çalışılmış formları arasında kisspeptin-54, kisspeptin-10, kisspeptin-14 ve kisspeptin-13 bulunur. Kisspeptin-54, tam uzunluğa sahip olan formudur. Bu peptitlerin hepsi, kisspeptin reseptörüne (GPR54 olarak da bilinen KISS1R)

bağlanmak için gerekli olan ortak bir C-terminal bölgesine sahiptir (Kotani ve ark., 2001; Muir ve ark., 2001; Ohtaki ve ark., 2001).



Şekil 10. Kisspeptin ve GPR54 protein yapısı (Trevisan ve ark., 2018)

2.3.1.1.3. Kisspeptinin reseptörleri ve bulunduğu dokular

Kisspeptin, etkilerini, G proteinine bağlı bir reseptör olan KISS1R' ye bağlanarak gösterir (Muir ve ark., 2001). KISS1R, hipotalamus, hipofiz ve gonadlarda yüksek seviyelerde ifade edilmektedir ve bu da üremenin düzenlemesindeki önemli rolünü vurgulmaktadır. KISS1R'nin aktivasyonu, GnRH salgılanmasını düzenleyen hücre içi sinyal yolaklarını uyarır.

KISS1R, başlıca beyin ve üreme organlarında bulunsa da birçok farklı dokuda da ifade edilir (Oakley ve ark., 2009). Beyindeki KISS1R ifadesi birincil olarak hipotalamusta, özellikle ARC'de ve anteroventriküler periventriküler çekirdekte bulunur. ARC bölgedesindeki nöronlar, hipofiz bezinden LH ve FSH salgılanmasını düzenleyen GnRH pulsatil salınımı için çok önemli bir role sahiptir (Goodman ve ark., 2007; Kafa, & Eyigor, 2011). AVPV bölgesinde bulunan kisspeptin nöronları ise, östrojenin pozitif feedback mekanizmasını düzenler ve ovulasyon için gerekli olan LH zirvesinin gerçekleşmesini sağlar (Clarkson & Herbison, 2006b; Kafa, & Eyigor, 2011).

KISS1R, LH ve FSH üreten hücreler olan gonadotroplarda, ön hipofiz bezinde ifade edilir. Kisspeptin, gonadotropin salınımını sağlamak için doğrudan hipofiz

üzerinde etki gösterir, ancak bu etki GnRH nöronları üzerindeki etkisinde göre daha az belirgindir. Hipofizde KISS1R ifadesi, kisspeptin sinyallemesine yanıt olarak gonadotropin salgılanmasının düzenlenmesinde rol oynar (Trevisan ve ark., 2018).

KISS1R, ovaryumlarda ve testislerde de ifade edilir. Gonadlarda, kisspeptin steroidogenez, foliküler gelişim ve spermatogenezi düzenler (Makri, Pissimissis, Lembessis, Polychronakos, & Koutsilieris, 2008). Ovaryumlarda, kisspeptin-KISS1R sinyali foliküler gelişimi ve ovulasyonu destekler. Testislerde ise, testosteron üretimini ve spermin olgunlaşmasını düzenler (Tena-Sempere, 2006).

Plasentada, KISS1R, özellikle trofoblast hücrelerinde ifade edilir. Plasentadaki Kisspeptin-KISS1R sinyallemesi, implantasyonda, plasental gelişimde ve gebelikle ilişkili hormonların düzenlenmesinde rol oynar (Bilban ve ark., 2004).

KISS1R, yağ dokusunda, özellikle beyaz yağ hücrelerinde ifade edilir. Yağ dokusundaki kisspeptin sinyalizasyonu, yağ hücresi farklılaşmasını ve lipid metabolizmasını etkileyebilir. Böylelikle kisspeptin, enerji dengesi ve üreme işlevi arasında bağlantı kurar (Brown, Imran, Ur, & Wilkinson, 2008).

KISS1R ifadesi, ayrıca kalp, böbrekler ve kemikler gibi diğer birçok dokuda da tespit edilmiştir. Bu dokularda, KISS1R, kardiyovasküler işlevde, böbrek fizyolojisi ve kemik metabolizmasında rol oynayabilir, ancak bu dokulardaki fizyolojik rolleri tam olarak anlaşılmamıştır (Kotani ve ark., 2001).

2.3.1.1.4. Kisspeptinin sinyal yolakları

Kisspeptin, dokuya ve fonksiyona özgü olarak birden fazla sinyal yolunu aktive edebilir. Spesifik sinyal mekanizmaları (Şekil 11), hücre tipine göre değişerek hormon salınımı, üreme ve tümör baskılanması gibi fonksiyonların hassas bir şekilde düzenlenmesini sağlar.

Fosfolipaz C (PLC) ve kalsiyum (Ca^{2+}) mobilizasyonu: Kisspeptin, GPR54'e bağlanarak, PLC'yi uyaran Gq/11 proteininin aktivasyonunu başlatır. İnositol trisfosfat (IP_3) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur ve bu, hücre içi Ca^{2+} salınımını ve protein kinaz C'nin (PKC) aktivasyonunu sağlar. Hücre içi Ca^{2+} miktarındaki artış, GnRH salgılanması ve hormon düzenlenmesi için kritik öneme sahiptir.

Mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK) yolu: Kisspeptin, hücre sinyalizasyonu, proliferasyon ve hormon salınımında rol oynayan ERK1/2 ve p38

MAPK yollarını aktive eder. Bu yolak, üremenin nöroendokrin olarak düzenlemesinde rol oynar.

Kemokin sinyalizasyonuyla fonksiyonel etkileşim (CXCR4): Kisspeptin/GPR54 sinyalizasyonu, tümör metastazı ve immün fonksiyonla bağlantılı olan kemokin reseptörü CXCR4'ü inhibe eder. Bu yolak, kisspeptinin kanserin baskılanmasında potansiyel bir rol oynayabildiğini göstermektedir.

NF-κB ve matriks metalloproteinaz 9 (MMP-9): Kisspeptin, NF-κB aktivitesini düzenleyerek, hücre göçü ve invazyonunda rol oynayan bir enzim olan MMP-9'un ekspresyonunu düzenler. Bu, kisspeptinin tümör metastazının inhibisyonundaki rolünü gösterir (Castaño, Martínez-Fuentes, Gutiérrez-Pascual, Vaudry, Tena-Sempere, & Malagón, 2009).



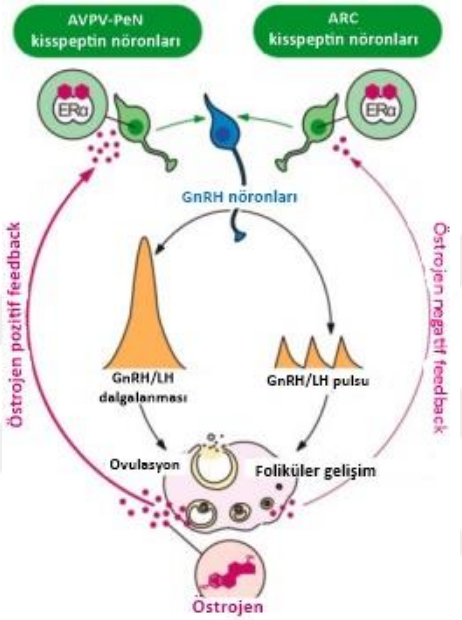
Şekil 11. KISS-1/GPR54 sinyal yolakları (Castaño ve ark., 2009)

2.3.1.1.5. Kisspeptin ve HPG ekseni

Kisspeptin, üreme fonksiyonunu yöneten HPG ekseninin ana düzenleyicisidir. Kisspeptin nöronları, hipotalamusta, ARC'de ve AVPV'de bulunur (Şekil 12). Bu nöronlar, GnRH nöronlarına projeksiyon yaparak doğrudan GnRH salınımını uyarır (Clarkson & Herbison, 2006b). GnRH'nin pulsatil salınımı ise gonadlar üzerine etki ederek, LH ve FSH'nin sentezini ve salınımını düzenler ve gonadlarda steroidogenez ve gametogenezi teşvik eder.

Kisspeptin, ayrıca HPG eksenindeki feedback mekanizmalarında da yer alır.

Örneğin, östrojen, AVPV'deki kisspeptin nöronları üzerinde pozitif feedback uygular ve bu da kadınlarda ovulasyon öncesindeki LH zirvesi için kritik öneme sahiptir (Smith, Cunningham, Rissman, Clifton, & Steiner, 2005). Tersine, seks steroidlerinin ARC kisspeptin nöronları üzerindeki negatif feedback mekanizması ise, FSH ve LH salınımını sınırlayarak HPG ekseninde homeostazın korunmasına yardımcı olur (Lehman ve ark., 2010a).



Şekil 12. Östrojenin negatif ve pozitif geri bildirim mekanizmaları (Uenoyama, Inoue, Nakamura, & Tsukamura, 2021)

2.3.1.1.6. Kisspeptin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Östrojen, hipotalamusun bölgesine bağlı olarak kisspeptin ekspresyonu üzerinde ikili bir etkiye sahiptir. AVPV'de, östrojen, kisspeptin ekspresyonununu artırarak dişilerde preovulatuar LH dalgalanmasını sağlar. Bu pozitif feedback mekanizması, ovulasyonun gerçekleşmesi için gereklidir (Smith ve ark., 2005).

Leptin, yağ dokusu tarafından üretilen bir adipokindir ve tokluk durumunda beyine, enerjinin yeterli olduğunu bildirir. ARC'de kisspeptin ekspresyonunu uyararak, metabolik durum ile üreme fonksiyonu arasında bağlantıyı sağlar. Leptin eksikliği (örneğin açlık veya anoreksiya) kisspeptin seviyelerini azaltır ve GnRH salınımının baskılanmasına yol açarak üreme fonksiyonunu baskılar (Childs, Odle, MacNicol, & MacNicol, 2021).

Glikoz metabolizmasında rol oynayan bir hormon olan insülinin, hipotalamusta kisspeptin ekspresyonun artırdığı gösterilmiştir. Bu etki, metabolik durum ile üreme fonksiyonu arasında bağlantı sağlayabilir (Qiu ve ark., 2015).

ARC'de kisspeptin ile birlikte eksprese edilen bir nöropeptit olan NKB, kisspeptin ekspresyonunu artırır. Bu etkileşim, pulsatil GnRH salınımını düzenleyen KNDy nöral ağının bir parçasıdır (Goodman ve ark., 2007).

2.3.1.1.7. Kisspeptin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Glukokortikoidler, strese yanıt olarak adrenal bezlerden salgılanırlar ve hipotalamusta kisspeptin ekspresyonunu baskılarlar. Bu durum, kronik stres koşulları altında gözlemlenen üreme işlev bozukluklarını açıklayabilir (Huang, Liu, Huang, Wen, & Chen, 2022).

IL-1β ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinler, hipotalamusta kisspeptin ekspresyonunu azaltır. Bu mekanizmalar, hastalık veya inflamasyon durumunda üremenin baskılanmasını sağlar (Castellano ve ark., 2010).

Dinorfin, ARC'de kisspeptin ile birlikte ifade edilen bir opioid peptittir ve kisspeptin salınımını baskılar. Bu baskılayıcı etki, pulsatil GnRH salgılanmasını düzenleyen KNDy nöronlarının negatif feedback döngüsünün bir parçasıdır (Goodman ve ark., 2007).

Beslenme yetersizliği veya aşırı egzersiz gibi durumlarda ortaya çıkan düşük enerji, kisspeptin ekspresyonunu azaltır. Bu etki, kisspeptin aktivitesini devam ettirmek için önemli olan leptin ve insülin seviyelerinin azalmasıyla oluşur (Castellano ve ark., 2005).

2.3.1.1.8. Kisspeptin ve POY

POY'de, HPG ekseninin normal işlevi bozulur ve bu da ovaryum foliküllerinin kaybına ve östrojen seviyelerinde düşüşe sebep olur (Mikhael ve ark., 2019). Kisspeptin düzensizliği bu duruma çeşitli şekillerde sebep olabilir.

Çalışmalar, POY'li kadınların genellikle azalmış kisspeptin seviyelerine veya bozulmuş kisspeptin sinyalizasyonuna sahip olduğunu göstermektedir (Hussein, Fahad, & Kredy, 2021). Bu durumlar, GnRH salınımının azalmasına yol açarak, düşük LH ve FSH seviyelerine sebep olur ve foliküler gelişim ve ovulasyon bozuklukları

görülür (Jayasena ve ark., 2014).

KISS1 genindeki mutasyonlar veya kisspeptin reseptörü KISS1R'deki (GPR54) mutasyonlar, POY gibi üreme bozukluklarıyla ilişkilendirilmiştir. Bu mutasyonlar, kisspeptinin GnRH salınımını uyarma yeteneğini bozabilir ve hipogonadotropik hipogonadizme ve ovaryum disfonksiyonuna yol açabilir (de Roux ve ark., 2003).

Gaytan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Kiss1R haplo-yetersiz (Kiss1R+/-) fareler, yaş ilerledikçe ovulasyon oranlarında azalma, antral folikül kaybı ve oosit kaybı göstermiştir. Kiss1R null (Kiss1R-/-) fareler ise, gonadotropin desteğine rağmen normal ovulasyon yanıtı verememiştir. Bu bağlamda, Kiss1R eksikliği, ovaryum fonksiyon kaybına neden olmaktadır ve kisspeptin sinyalinin bozulması, ovaryum yaşlanmasını hızlandırarak POY gelişimine sebep olabilir (Gaytan ve ark., 2014).

Otoimmün mekanizmalar, POY' nin yaygın nedenlerinden biridir. İnterlökin-1 beta (IL-1β) ve tümör nekroz faktör- alfa (TNF-α) gibi inflamatuar sitokinler, hipotalamusta kisspeptin ifadesini baskılayabilir, HPG eksenini bozabilir ve böylelikle over yetmezliğine sebep olabilir (Makowski, Kreisman, McCosh, Raad, & Breen 2020).

Anoreksiya nervoza veya aşırı egzersiz gibi düşük enerjiyle ilişkili durumlar, hipotalamusta kisspeptin ekspresyonunu azaltabilir. Bu, POY'ye ve bazı özellikleri paylaşan fonksiyonel hipotalamik amenoreye yol açabilir (Castellano ve ark., 2005).

2.3.1.2. Galanin

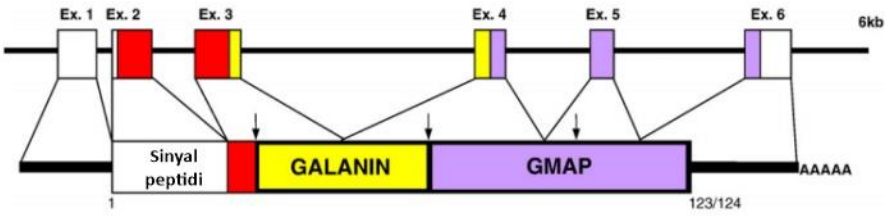
2.3.1.2.1. Galaninin tanımı ve tarihçesi

Galanin, ilk olarak 1983 yılında, İsveç'te Tatemoto ve meslektaşları tarafından domuz bağırsağından izole edilen bir nöropeptittir. Biyoaktif peptitlerin ortak bir özelliği olan C- terminal amidasyonlu peptitlerle ilgili yapılan bir araştırma sırasında tanımlanmıştır (Tatemoto, Rökaeus, Jörnvall, McDonald, & Mutt, 1983).

Galanin ismi, N- terminalinde bulunan glisin (G) ve C- terminalinde bulunan alanin (A) kalıntılarından türetilerek verilmiştir. Keşfedildiği tarihten bu yana galaninin, merkezi ve periferik sinir sistemlerinde ve ayrıca nöronal olmayan dokularda yaygın olarak dağıldığı bulunmuştur; ayrıca üreme, beslenme davranışı, nosisepsiyon ve bilişsel çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır (Lang, Gundlach, & Kofler, 2007).

2.3.1.2.2. Galaninin moleküler yapısı

Galanin, GAL geni tarafından kodlanır. Bir preprogalanin öncüsü üreten bir peptit hormonudur (Şekil 13). Bu öncü, 29-30 amino asitten oluşan olgun galanin peptidini üretmek için proteolitik enzimler tarafından parçalanır. N- terminal bölgesi oldukça korunmuştur ve bu bölge, reseptör bağlanması ve aktivasyonu için kritiktir. C-terminal bölgesi ise türler arasında farklılık gösterir ve peptidin işlevsel çeşitliliğini sağlar. Peptit, biyolojik aktivitesi için C- terminalinden amidlenir (Branchek, Smith, Gerald & Walker, 2000).



Şekil 13. Preprogalanin geninin organizasyonu (Lang ve ark., 2007)

2.3.1.2.3. Galanin reseptörleri ve sinyal yolakları

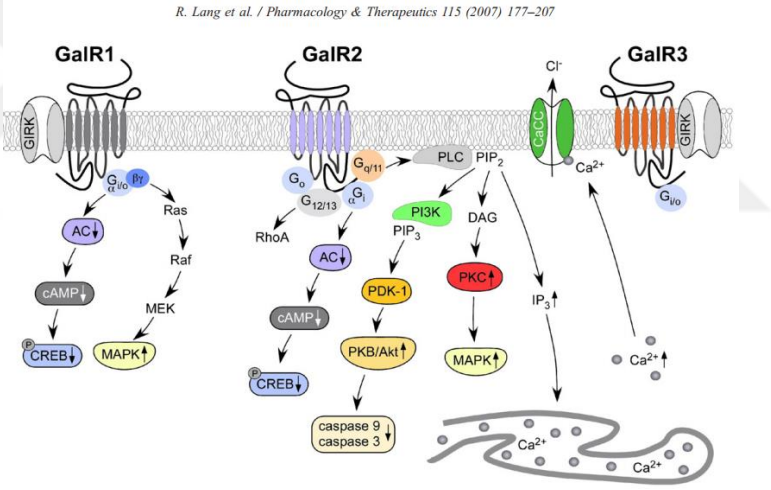
Galanin, çeşitli fizyolojik etkilerini G proteinine bağlı reseptörler (GPCR) aracılığıyla uygular. Galaninin, GAL1, GAL2 ve GAL3 olmak üzere 3 reseptörü vardır (Şekil 14). Bu reseptörler ayrı genler (GALR1, GALR2 ve GALR3) tarafından kodlanır ve farklı doku dağılımları, sinyal mekanizmaları ve işlevsel rollere sahiplerdir (Branchek ve ark., 2000).

GAL1 reseptörü, GALR1 geni tarafından kodlanan 349 amino asitli bir proteindir. Gi/o proteinlerine bağlanır ve adenilat siklazı (AC) inhibe ederek hücre içi siklik AMP (cAMP) seviyelerinde azalmaya yol açar ve genelde nöronal aktiviteyi inhibe edici role sahiptir. GAL1, merkezi sinir sisteminde (MSS'de) (hipotalamus, hipokampüs, dorsal kök ganglionları, omurilik) yüksek seviyelerde ifade edilir. Pankreas ve gastrointestinal sistem dahil olmak üzere periferik dokularda da bulunur (Branchek ve ark., 2000). GAL1 sinyalizasyonu, nöroproteksiyon, analjezi ve beslenme davranışının düzenlenmesiyle ilişkilidir (Lang ve ark., 2007).

GAL2 reseptörü, GALR2 geni tarafından kodlanan 372 amino asitli bir proteindir. Gq/11 proteinlerine bağlanarak PLC'yi aktive eder ve IP_3 ve DAG üretimi yoluyla hücre içi Ca^{2+} seviyelerini artırır (Branchek ve ark., 2000). Bu sinyal yolu,

nörotransmitter salınımı, hormon salgılanması ve hücre proliferasyonunda rol oynar (Lang ve ark., 2007). GAL2; GAL1'e kıyasla galanin için daha düşük bir afiniteye sahiptir ancak daha geniş bir ligand özgüllüğü sergiler (Wang, Hashemi, He, Strader, & Bayne, 1997). Hipotalamus, amigdala ve hipokampüs dahil olmak üzere MSS'de ve hipofiz bezi, adrenal bez ve gonadlar gibi periferik dokularda ifade edilir.

GAL3 reseptörü, GALR3 geni tarafından kodlanan 370 amino asitli bir proteindir. GAL1'de olduğu gibi, Gi/o proteinlerine bağlanır, ancak daha düşük bir afiniteye sahiptir. GAL3 aktivasyonu, adenilat siklazı inhibe ederek cAMP seviyelerini azaltır ve iyon kanalı aktivitesini düzenler. Reseptörün C- terminal bölgesi, hücre içi sinyalizasyon için kritik öneme sahiptir (Smith ve ark, 1998a). GAL3, hipotalamus, talamus ve beyin sapı dahil olmak üzere MSS'de ve kalp ve böbrekler gibi periferik dokularda ifade edilir (Branchek ve ark., 2000).



Şekil 14. Galanin reseptörleri ve sinyal yolakları

2.3.1.2.4. Galaninin fonksiyonları

Galanin, çok işlevli bir nöropeptittir. Merkezi ve periferik sinir sisteminde ve nöronal olmayan dokulardaki yaygın dağılımıyla; homeostaz, davranış ve hastalık durumlarını düzenlemede önemli bir role sahiptir.

Galanin, üreme işlevini kontrol eden HPG ekseninin düzenleyicilerinden biridir. GnRH ile birlikte ifade edilir ve GnRH salınımını güçlendirir, böylece hipofiz bezinden LH ve FSH salgılanmasını tetikler (Merchenthaler ve ark., 1993). Bu etkileşim, ergenlik, ovulasyon ve emzirme gibi yüksek üreme aktivitesi dönemlerinde

önemlidir. Galanin, ayrıca seks steroidlerinin HPG eksenindeki feedback etkilerini düzenler. Örneğin, östrojen, hipotalamusta galanin ifadesini artırır ve ovulasyon öncesi LH dalgalanmasını sağlayan pozitif bir feedback döngüsü oluşturur (Fang ve ark, 2015).

Galanin, besin alımını uyaran güçlü bir oreksijenik (iştah artırıcı) peptittir. Hipotalamusta, PVN ve ARC gibi hipotalamik çekirdekler üzerinde etki ederek beslenmeyi teşvik eder. Galanin, iştahı ve enerjiyi artırmak için NPY gibi diğer oreksijenik peptitlerle etkileşime girer. Hipotalamustaki ifadesi, beslenme durumundan etkilenir ve uzun süreli açlık durumu, hipotalamusta galanin mRNA seviyelerini artırır (Leibowitz, 2005).

Ayrıca galanin, hipokampüste ve diğer beyin bölgelerinde, öğrenme ve hafıza dahil olmak üzere bilişsel süreçleri düzenler (O'Meara ve ark., 2000). Ayrıca amigdala, hipokampüs ve prefrontal kortekste, ruh hali ve anksiyetenin düzenlenmesinde rol oynar (Holmes ve ark., 2003).

2.3.1.2.5. Galanin ve HPG ekseni

Galanin, üreme fonksiyonu için gerekli olan HPG ekseninin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Galanin, GnRH, LH, FSH ve seks steroidleriyle etkileşimleri yoluyla hipotalamus, hipofiz bezi ve gonadlar dahil olmak üzere bu ekseni farklı yollarla etkileyebilir.

Galanin, hipotalamusta özellikle preoptik alanda (POA) ve ARC'de GnRH nöronları ile birlikte ifade edilir (Merchenthaler ve ark., 1993). Bu kolokalizasyon, galaninin, GnRH salgılanmasını düzenlediğini göstermektedir. Galanin, GnRH salınımını hem doğrudan hem de dolaylı mekanizmalar aracılığıyla güçlendirir.

Galanin; doğrudan GnRH nöronlarındaki reseptörlerine (başlıca GAL1 ve GAL2) bağlanarak GnRH salgılanmasını teşvik edebilir (Lang ve ark., 2007). Bu etki, adenilat siklazın inhibisyonu (GAL1 yoluyla) ve PLC'nin uyarılması (GAL2 yoluyla) gibi hücre içi sinyal yollarının aktivasyonu gerçekleşir.

Dolaylı olarak ise; galanin, GABA, glutamat ve kisspeptin gibi GnRH ifadesini düzenleyen diğer nörotransmitterlerin ve nöropeptitlerin aktivitesini düzenleyebilir. Örneğin, galanin GnRH nöronlarına GABAerjik girdileri inhibe edebilir ve böylece GnRH salınımını engelleyebilir (Kalló ve ark., 2011)

Galanin, ön hipofiz bezinden LH ve FSH salgılanmasını düzenler. Galanin reseptörlerini (esas olarak GAL2) ifade eden hipofiz gonadotropları üzerinde etki ederek bu hücrelerin GnRH'ye duyarlılığını artırır (Merchenthaler ve ark., 1993). Bu etki, kadınlarda ovulasyon için gerekli olan LH dalgalanması sırasında özellikle önemlidir.

Galanin, HPG eksenini düzenlemek üzere östrojen ve testosteron gibi seks steroidleriyle etkileşime girer. Bu etkileşimler, üreme işlevini düzenleyen feedback oluşturur. Östrojen, hipotalamusta özellikle POA ve ARC' de galanin ekspresyonunu artırır ve ovulasyon öncesi LH artışını kolaylaştıran pozitif bir feedback döngüsü oluşturur. Bu etki, galanin transkripsiyonunu artırmak için GAL gen promotörüne bağlanan östrojen reseptörü alfa (ERα) tarafından oluşturulur (Fang ve ark, 2015).

2.3.1.2.6. Galanin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Östrojen, hipotalamusta özellikle POA ve ARC'de galanin ekspresyonunu güçlü şekilde artırır (Cheung, Clifton, & Steiner, 1996). Östrojen kaynaklı artan galanin ekspresyonu, kadınlarda preovulatuar LH dalgalanmasında kritik bir rol oynar (Fang ve ark, 2015).

Kalló ve arkadaşları (2011), GnRH nöronlarının önemli bir düzenleyicisi olan kisspeptinin, hipotalamusta galanin ekspresyonunu artırarak, GnRH salınımını ve üreme işlevini düzenlediğini göstermiştir. (Kalló ve ark., 2011).

Uzun süreli açlık, hipotalamusta özellikle PVN galanin ekspresyonunu artırarak besin alımını ve enerji homeostazını düzenler (Leibowitz, 2005).

2.3.1.2.7. Galanin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Progesteron, özellikle adet döngüsünün luteal fazında, hipotalamusta galanin ekspresyonunu azaltabilir. Bu etki, LH artışının zamanlamasını düzenlemeye yardımcı olur (Fang ve ark, 2015).

Hipotalamusta testosteron, galanin ekspresyonunu inhibe ederek GnRH salınımını düzenleyen negatif bir feedback mekanizması yaratabilir (Lang ve ark., 2007).

GABA, hipotalamusta galanin ekspresyonunu inhibe ederek GnRH salınımını ve LH salgılanmasını azaltır. Bu etki, HPG ekseninin inhibe edici düzenlemesinin bir parçasıdır (Kalló ve ark., 2011).

2.3.1.2.8. Galanin ve POY

Galanin, üreme fonksiyonunu kontrol eden HPG eksenini düzenlemede kritik rol oynayan bir nöropeptittir. Galanin sinyallemesinin düzensizliği, POY'de gözlenen HPG ekseninin bozulmasına sebep olabilir (Merchenthaler ve ark., 1993).

Bozulmuş galanin sinyallemesi steroidogenezi bozabilir ve foliküler atreziye sebep olabilir ve ovaryum foliküllerinin hızla tükenmesiyle POY'ye yol açabilir (Holmes ve ark., 2003).

Galanin nöroprotektif etkilere sahiptir, ovaryum hücrelerini oksidatif stres ve apoptozdan koruyabilir. Bu sebeple galanin sinyallemesinin düzensizliği; apoptoza ve oksidatif strese duyarlılığı artırabilir ve POY'de foliküler tükenmeye katkıda bulunabilir (Lang ve ark., 2007).

2.3.1.3. α-melanosit uyarıcı hormon (α-MSH)

2.3.1.3.1. α-MSH'nin tanımı ve tarihçesi

α-MSH; adrenokortikotropik hormon (ACTH) gibi diğer peptitleri de içeren melanokortin ailesinin bir üyesidir. Post translasyonel olarak işlenmesiyle, öncü protein POMC'den türetilir (Schiöth, & Watanobe, 2002).

Başlangıçta cilt pigmentasyonundaki rolüyle tanımlanan α-MSH; artık enerji homeostazı, inflamasyon, cinsel davranış ve üremede rolleri olan çok işlevli bir hormon olarak bilinmektedir (Cone, 2006; Eberle, 1988).

α-MSH'nin keşfi, araştırmacıların cilt pigmentasyonundan sorumlu faktörleri araştırmaya başladığı 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. 1910'larda ve 1920'lerde bilim insanları, hipofiz bezinden elde edilen özütlerin amfibilerin cildini koyulaştırabileceğini gözlemlediler; bu gözlem "melanosit uyarıcı faktör"e atfedildi (Eberle, 1988). 1950'lerde, bu aktiviteden sorumlu peptit izole edildi ve α-MSH olarak isimlendirildi. α-MSH'nin tam amino asit dizisi 1960'larda belirlendi ve peptit biyokimyasında önemli bir dönüm noktası oldu (Sawyer ve ark., 1980).

1990'larda melanokortin reseptörlerinin (MCR'ler) klonlanması, α-MSH'nin, GPCR ailesi aracılığıyla etkilerini gösterdiğini ortaya koydu (Cone, 2006). Bu keşif, iştah, enerji dengesi ve üreme düzenlenmesi gibi çeşitli fizyolojik işlevlerine yönelik araştırmalar için yeni yollar açtı (Schiöth, & Watanobe, 2002).

2.3.1.3.1. α-MSH'nin moleküler yapısı

α-MSH, 13 amino asitten oluşan kompakt, doğrusal peptit dizisiyle karakterize edilir. Biyolojik aktivitesi için N- terminal serin kalıntısı asetillenir, C-terminal valin kalıntısı amidlenir (Sawyer ve ark., 1980). α-MSH'nin çekirdek dizisi olan His-Phe-Arg-Trp, "mesaj dizisi" olarak bilinir ve reseptör bağlanması ve aktivasyonu için bu dizi gereklidir. Bu dizi, ACTH, β-MSH ve γ-MSH gibi diğer melanokortin peptitleri ile ortaktır ve bu da benzer işlevlerini açıklar (Eberle, 1988).

α-MSH'nin üç boyutlu yapısı esnektir ve birden fazla melanokortin reseptörüyle etkileşime girmesine olanak sağlar (Sawyer ve ark., 1980).

2.3.1.3.2. α-MSH reseptörleri ve sinyal yolakları

α-MSH, biyolojik etkilerini GPCR'lerin bir ailesi olan MCR'lere bağlanarak gösterir. Bugüne kadar beş MCR alt tipi tanımlanmıştır: MC1R, MC2R, MC3R, MC4R ve MC5R. Her reseptör alt tipinin dokularda farklı dağılmı, farklı ligand özgüllüğü ve farklı fizyolojik işlevleri vardır (Cone, 2006).

MC1R (melanokortin 1 reseptörü), esas olarak melanositlerde ifade edilir ve cilt ve saç pigmentasyonunu düzenler. α-MSH bağlandıktan sonra, MC1R, adenilat siklazı aktive eder ve bu da hücre içi cAMP seviyelerinin artmasına ve ardından protein kinaz A'nın aktivasyonuna yol açar. Bu sinyal kaskadı, cilt ve saç rengini belirleyen melanin üretimini uyarır (Mountjoy ve ark., 1992). MC1R ayrıca immün sistem hücrelerinde de ifade edilir ve burada α-MSH'nin anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkilerine aracılık eder (Wikberg ve ark., 2000).

MC2R (melanokortin 2 reseptörü), α-MSH yerine, ACTH ile spesifik olarak bağlandığı için MCR'ler arasında benzersizdir. Çoğunlukla adrenal kortekste ifade edilir ve burada strese yanıt olarak glukokortikoidlerin üretimini ve salınımını düzenler. ACTH'ye afinitesi nedeniyle MC2R, α-MSH için birincil reseptör olarak kabul edilmez (Clark & Cammas, 1996).

MC3R (melanokortin 3 reseptörü), özellikle hipotalamusta olmak üzere, bağırsak ve plasenta gibi periferik dokularda da yaygın olarak ifade edilir. Hem α-MSH hem de γ-MSH için yüksek bir afiniteye sahiptir. Enerji homeostazında ve beslenme davranışında önemli bir rol oynar (Butler ve ark., 2000). MC3R nakavt fare çalışmaları, bu reseptörün yağ depolaması ve besin alımının düzenlenmesinde yer aldığını ve metabolik süreçlerle bağlantılı olduğunu göstermiştir (Chen ve ark., 2000).

MC4R (melanokortin 4 reseptörü), özellikle iştah düzenlemesi ve enerji dengesiyle ilgili hipotalamus bölgelerinde yüksek seviyelerde ifade edilir. α-MSH'nin anoreksijenik (iştah kesici) etkilerinin önemli bir aracısıdır. MC4R' nin aktivasyonu, besin alımının azalmasına ve enerji harcamasının artmasına yol açar ve böylece vücut ağırlığının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Huszar ve ark., 1997). MC4R ayrıca, HPG ekseniyle etkileşimleri yoluyla cinsel davranışı ve üreme işlevlerini etkiler (Schiöth, ve Watanobe, 2002).

MC5R (melanokortin 5 reseptörü), başlıca, cilt, adrenal bez ve ekzokrin bezler gibi çeşitli dokularda ifade edilir. Yağ bezi fonksiyonunun düzenlenmesinde ve termoregülasyonda rol oynar (Xu, Guan, Zhou, & Gong, 2020).

MC2R hariç tüm MCR'ler, α-MSH'ye yüksek afiniteyle bağlanır ve Gαs proteini aracılığıyla AC'yi aktive ederek, hücre içi cAMP seviyelerini artırır (Cone, 2006). cAMP'deki artış, proetin kinaz A (PKA)'yı aktive eder. Bu sinyal yolu, melanin sentezi, iştah düzenlemesi ve steroidogenez gibi hücresel tepkileri ve gen ekspresyonunu düzenler (Mountjoy, Robbins, Mortrud, & Cone, 2010).

cAMP-PKA yoluna ek olarak, MCR'ler, MAPK yolu ve fosfoinozitid 3-kinaz (PI3K) yolu dahil olmak üzere diğer sinyal kaskadlarını aktive edebilir. Bu yolaklar, α-MSH'nin anti-inflamatuar ve nöroprotektif etkilerine de katkıda bulunur (Catania, Gatti, Colombo, & Lipton, 2004).

2.3.1.3.3. α-MSH'nin fonksiyonları

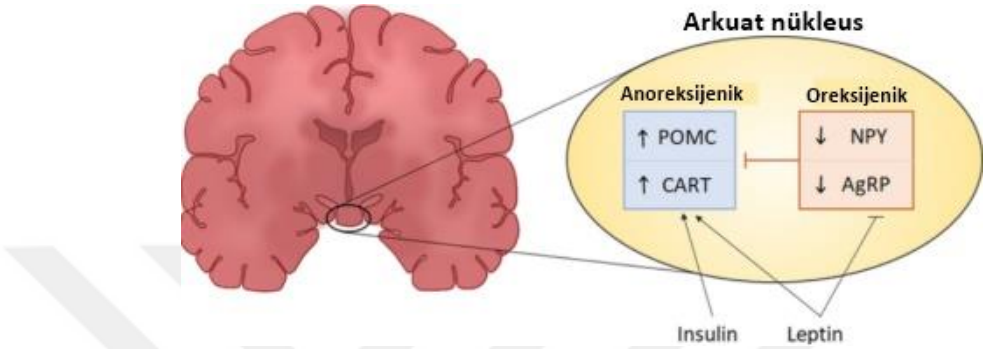
α-MSH, öncü protein POMC'den türetilen çok işlevli bir nöropeptittir. Etkilerini, MSS'de ve periferik dokularda ifade edilen MCR'ler aracılığıyla gösterir (Schiöth, & Watanobe, 2002).

α-MSH, en fazla, cilt ve saç pigmentasyonunu düzenlemedeki rolüyle bilinir. Melanositlerdeki MC1R'ye bağlanarak cilt, saç ve göz renginden sorumlu pigment olan melanin üretimini uyarır (Mountjoy ve ark., 1992).

Aynı zamanda α-MSH, enerji dengesinin ve vücut ağırlığının önemli bir düzenleyicisidir. Hipotalamusta, α-MSH MC4R'ye bağlanarak anoreksijenik (iştahı baskılayan) bir peptit görevi görür (Huszar ve ark., 1997). Bu etkileşim, besin alımını baskılar ve enerji harcamasını teşvik eder (Cone, 2006).

Melanokortin sistemi, leptin ve insülin gibi periferik hormonlardan gelen sinyalleri entegre eder (Şekil 15). Yağ dokusundan salgılanan leptin, hipotalamusun

ARC bölgesindeki POMC nöronlarını α-MSH üretmeleri için uyarır ve bu da iştahı baskılamak için MC4R'yi aktive eder. Bunun tersine, MC4R'nin endojen bir antagonisti olan AgRP, açlık hissini oluşturarak ve enerji harcamasını azaltarak α-MSH'nin etkilerini baskılar. Bu sistemin düzensizliği, şiddetli obezite ve metabolik bozukluklarla ilişkilidir (Samodien ve ark., 2019).



Şekil 15. Arkuat çekirdek ve enerji dengesi (Samodien ve ark., 2019)

α-MSH, ayrıca güçlü bir anti-inflamatuar ve immünomodülatör ajandır. Bu etkileri; makrofajlar, nötrofiller ve dendritik hücreler gibi immün sistem hücrelerinde ifade edilen MC1R'ye bağlanarak gösterir (Wikberg ve ark., 2000). α-MSH, proinflamatuar sitokinlerin üretimini engellerken, anti-inflamatuar sitokinlerin salınımını teşvik eder (Catania ve ark., 2004).

α-MSH, cinsel davranış ve üreme işlevlerini düzenlemede önemli bir rol oynar. α-MSH, beyinde, dopaminerjik ve serotonerjik sistemlerle etkileşimleri yoluyla libidoyu ve çiftleşme davranışlarını artırmak için MC4R üzerinden etki eder (Schiöth, & Watanobe, 2002). HPG ekseninde, α-MSH, GnRH salınımını düzenler (Gottsch ve ark., 2004). Böylelikle foliküler gelişimi ve ovulasyonu destekler (Kumbar, & Ganesh, 2021).

2.3.1.3.4. α-MSH ve HPG ekseni

α-MSH, hipotalamustaki GnRH nöronlarının aktivitesini düzenlemede önemli bir role sahiptir. GnRH nöronları, hipotalamusun POA ve ARC'sinde bulunur ve üreme kaskadının başlatılması için gereklidir. ARC'deki POMC nöronları tarafından üretilen α-MSH, GnRH nöronlarına projeksiyon yapar ve MCR'ler, özellikle MC3R ve MC4R aracılığıyla aktivitelerini etkiler (Schiöth, & Watanobe, 2002).

α-MSH tarafından MC4R'nin aktivasyonu, GnRH salınımını uyarır ve bu da hipofiz bezinden LH ve FSH salgılanmasını tetikler (Gottsch ve ark., 2004). Çalışmalar, α-MSH uygulamasının hem hayvan modellerinde hem de insanlarda LH salgılanmasını artırdığını göstermiştir ve bu da HPG ekseninde uyarıcı bir rolü olduğunu düşündürmektedir (Watanobe, Schiöth, Wikberg, & Suda, 1999). Bunun tersine, MC4R'nin endojen bir antagonisti olan AgRP, üreme fonksiyonunu düzenlemede GnRH salınımını engeller (Sutton ve ark., 2010).

HPG ekseni, enerji homeostazıyla yakından bağlantılıdır ve α-MSH bu ilişkinin önemli bir aracısıdır. ARC'deki POMC nöronları, vücudun enerji durumunu yansıtan leptin ve insülin gibi periferik hormonlardan gelen sinyalleri alır (Cone, 2006). Yağ dokusundan salgılanan leptin; POMC nöronlarını α-MSH üretmeye teşvik eder ve bu da üreme fonksiyonunu desteklemek için GnRH nöronlarındaki MC4R'yi aktive eder (Farooqi, & O'Rahilly, 2008). Uzun süreli açlık veya yetersiz beslenme gibi enerji eksikliği durumlarında, α-MSH üretimi azalır ve bu da GnRH salgılanmasının azalmasına ve HPG ekseninin baskılanmasına yol açar (Sutton ve ark., 2010).

Bu adaptif yanıt, üreme fonksiyonunun yalnızca yeterli enerji kaynakları mevcut olduğunda önceliklendirilmesini sağlar. Tersine, aşırı beslenme ve obezite, α-MSH sinyallemesini bozarak üreme işlev bozukluklarına yol açabilir (Schiöth, ve Watanobe, 2002).

α-MSH ayrıca, HPG ekseni üzerindeki etkileriyle cinsel davranışı ve libidoyu etkiler. Bu etkilere, ödül ve motivasyonda önemli rol oynayan dopaminerjik ve serotoninerjik sistemlerin modülasyonu aracılık eder (Schiöth, & Watanobe, 2002). α-MSH uygulamasının hayvan modellerinde cinsel aktiviteyi artırdığı gösterilmiştir (Pfaus, Shadiack, Van Soest, Tse, & Molinoff, 2004). Bu bulgular, α-MSH'nin cinsel davranışı düzenlemek için metabolik sinyalleri ve üreme sinyalleri arasında bağlantı kurmadaki önemini vurgulamaktadır.

2.3.1.3.5. α-MSH ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Yağ dokusu tarafından salgılanan bir hormon olan leptin, α-MSH üretiminin en güçlü uyarıcılarından biridir. Leptin, hipotalamusun ARC'sindeki POMC nöronları üzerinde etki ederek POMC ekspresyonunu ve ardından α-MSH üretimini artırır (Cowley ve ark., 2001).

Yüksek kan şekeri seviyelerine yanıt olarak pankreastan salgılanan insülin,

POMC nöronlarını uyarır. POMC nöronlarındaki insülin reseptörleri PI3K-Akt yolunu aktive ederek POMC ekspresyonunun ve α-MSH üretiminin artmasını sağlar (Plum ve ark., 2006).

Hipotalamusta üretilen CRH, hipofiz bezinden ACTH salınımını uyarır. ACTH, periferik dokularda α-MSH'ye işlenebilir. CRH, ayrıca hipotalamusta POMC ekspresyonunu doğrudan artırır (Vale ve ark., 1981).

2.3.1.3.6. α-MSH ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

AgRP, melanokortin reseptörlerinin (MC3R ve MC4R) endojen bir antagonisti ve α-MSH sinyallemesinin güçlü bir inhibitörüdür. AgRP, ARC'de, NPY ile birlikte ifade edilir ve POMC nöronlarını inhibe ederek α-MSH üretimini azaltır (Shutter ve ark., 1997).

Mide tarafından salgılanan bir açlık hormonu olan ghrelin, POMC nöronlarını inhibe eder ve α-MSH ekspresyonunu azaltır (Cowley ve ark., 2003). Uzun süreli açlık veya enerji eksikliği sırasında, POMC ve α-MSH ifadesi azalır. Bu adaptif yanıt, leptin ve insülin seviyelerinin azalması ve ghrelin ve AgRP aktivitesinin artmasıyla aracılık edilir (Schwartz ve ark., 2000).

IL-1β ve TNF-α gibi pro-inflamatuar sitokinler, hipotalamusta POMC ekspresyonunu baskılar. Bu etki, hastalık sırasında iştahın baskılanmasına sebep olabilir (Scarlett ve ark., 2008).

2.3.1.3.7. α-MSH ve POY

α-MSH, normal ovaryum fonksiyonu için gerekli olan GnRH pulsatilitesinin düzenleyicilerinden biridir. Azalmış α-MSH ifadesi, POY'de sıklıkla görülen bir durum olan hipogonadotropik hipogonadizme yol açan GnRH salgılanmasının azalmasına neden olabilir (Sutton ve ark., 2010). Tersine, aşırı α-MSH ifadesi, GnRH'nin pulsatil salınımını bozabilir, folikülogenezi bozabilir ve böylece foliküler tükenmeyi hızlandırabilir (Gottsch ve ark., 2004).

Oksidatif stresin, POY'de ovaryum yaşlanmasına ve foliküler tükenmeye önemli bir etkisi vardır. α-MSH, antioksidan özelliklere sahiptir ve serbest radikalleri temizleyerek ve antioksidan enzimlerin ifadesini artırarak oksidatif hasarı azaltabilir (Giuliani ve ark., 2010). α-MSH sinyallemesinin düzensizliği, ovaryumda oksidatif stresi şiddetlendirebilir, böylece foliküler atrezinin hızlanmasıyla birlikte POY'ye

sebep olabilir (Agarwal, Aponte-Mellado, Premkumar, Shaman & Gupta, 2012).

α-MSH, MC4R üzerindeki etkileriyle iştahı ve enerji dengesini düzenleyerek enerji homeostazında rol oynar (Cone, 2006). Obezite veya yetersiz beslenme gibi metabolik bozukluklar, α-MSH sinyallemesini bozabilir, bu da üremeyi olumsuz etkileyebilir.

2.3.1.4.Leptin

2.3.1.4.1. Leptinin tanımı ve tarihçesi

Leptin, Yunanca leptos kelimesinden köken alır ve "zayıf" anlamına gelir. Vücudun enerji durumunu, periferik yağ dokusundan MSS'ye ileten; iştahı, metabolizmayı ve üremeyi düzenleyen kritik bir endokrin sinyali olarak işlev görür. Özel bezler tarafından salgılanan hormonların aksine; leptin ağırlıklı olarak beyaz yağ dokusu tarafından üretilir ve yağ dokusununun önemli bir endokrin organ olduğunu gösterir (Zhang ve ark., 1994; Friedman, & Halaas, 1998).

Leptinin keşfi; hiperfaji, şiddetli obezite, insülin direnci ve infertilite görülen, genetik olarak obez (ob/ob) fareler üzerinde yapılan çalışmalara dayanmaktadır. Bu farelerin ob geninde çekinik bir mutasyon taşıdığı ve bunun, dolaşımdaki tokluk faktörünün eksikliğine yol açtığı bulunmuştur (Ingalls, Dickie, & Snell, 1950).

1994'te Zhang ve arkadaşları, ob genini pozisyonel klonlama yoluyla tanımladılar ve leptini karakterize ettiler (Zhang ve ark., 1994). Ob/ob mutant farelere rekombinant leptin verilmesi, vücut ağırlıklarını, besin alımını ve metabolik anormalliklerini iyileştirdi ve tokluk faktörü olarak rolünü doğruladı (Pelleymounter ve ark., 1995). Özellikle, leptin tedavisi ob/ob farelerinde doğurganlığı da geri kazandırdı ve üremedeki temel rolünü vurguladı (Chehab, Lim, & Lu, 1996).

Leptinin farelerde keşfinden kısa süre sonra, insanlarda da tanımlandı (Considine ve ark., 1996). LEP mutasyonlarına bağlı konjenital leptin eksikliği, hipogonadotropik hipogonadizmi olan aşırı obez bireylerde bulundu (Montague ve ark., 1997). Bu hastalarda leptin replasman tedavisi, kiloyu normalleştirdi, pubertal gelişimi düzenledi ve insan enerji homeostazında ve üremedeki rolünü vurguladı (Farooqi ve ark., 1999).

Leptinin keşfi, yağ dokusunun pasif bir enerji rezervuarı olmaktan ziyade, aktif bir endokrin organ olduğu anlayışını yeniden şekillendirdi (Ahima & Flier, 2000).

2.3.1.4.2. Leptinin moleküler yapısı

Leptin, insanlarda kromozom 7q31.3'te ve farelerde kromozom 6'da bulunan LEP geni (ob geni olarak da bilinir) tarafından kodlanır (Zhang ve ark., 1994). Öncül leptin preprohormonu, olgun 146 aminoasitlik proteini üretmek için parçalanan 21 aminoasitlik sinyal peptidi de dahil olmak üzere 167 amino asitten oluşur (Madej, Boguski, & Bryant, 1995). N- terminal bölgesi, türler arasında oldukça korunmuştur ve reseptör bağlanması için kritiktir, C- terminali ise tersiyer yapıyı stabilize eder (Peelman ve ark., 2004).

Leptin, disülfür bağı tarafından stabilize edilen dörtlü-α-heliks topolojisine sahiptir (Zhang ve ark., 1997). Bu yapı, leptini, büyüme hormonu (GH), interlökin-6 (IL-6) ve granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) ile homoloji paylaşan uzun zincirli heliks sitokin ailesinin bir üyesi olarak sınıflandırır (Madej ve ark., 1995). Disülfür bağı, leptinin biyoaktivitesi için çok önemlidir; buradaki mutasyonlar reseptör bağlanmasını engeller (Zhang ve ark., 1997)

2.3.1.4.3. Leptin reseptörleri ve sinyal yolakları

Leptin, sınıf 1 sitokin reseptör ailesine ait olan leptin reseptörlerine (LEPR'ler) bağlanarak etkilerini gösterir (Şekil 16). LEPR geni (LEPR veya OB-R olarak da adlandırılır) insanlarda kromozom 1p31'de bulunur ve en az altı alternatif izoform (LEPRa-f) üretir (Tartaglia ve ark., 1995). Uzun izoform LEPRb, tam uzunluktaki intraselüler alanı nedeniyle birincil sinyalleme yeteneğine sahip olan reseptördür. Diğer izoformlar (örn., LEPRa, LEPRc) daha kısadır ve leptin taşıyıcıları veya antagonistleri olarak görev yapabilir (Myers, Cowley, & Münzberg, 2008). LEPR'ler yaygın olarak ifade edilir ve hipotalamusta (ARC, VMN ve DMN), hipofizde ve üreme organlarında yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Hileman ve ark., 2002).

JAK2-STAT3 yolağı: LEPRb'deki tirozin kalıntıları, JAK2 aracılığıyla fosforile olur. Fosforile edilmiş Tyr1138, oreksijenik genleri (örn. NPY, AgRP) baskılarken; anoreksijenik genlerin (örn. POMC) transkripsiyonunu aktive eden sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3)'ü indükler (Münzberg, & Myers, 2005).

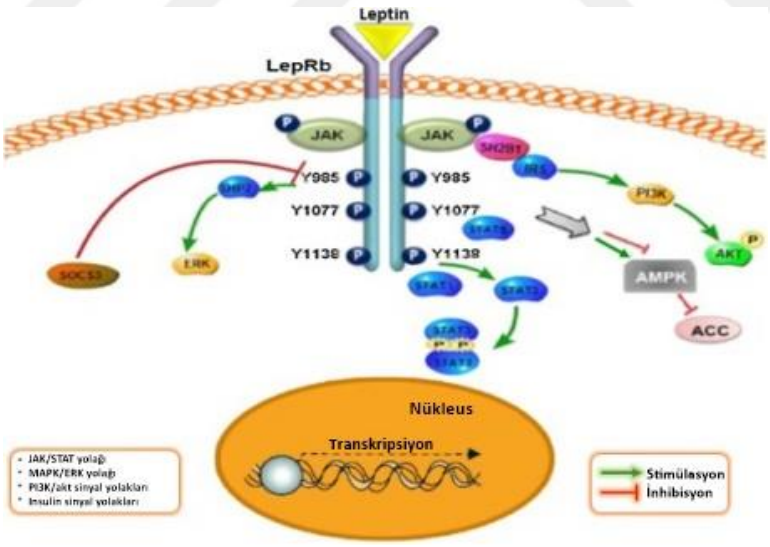
PI3K-Akt-mTOR yolağı: Leptin, insülin reseptör substratı (IRS) proteinleri aracılığıyla PI3K'yi uyarır ve Akt aktivasyonunu sağlar (Niswender ve ark., 2001). Bu yol, POMC ve AgRP nöronlarında nöronal uyarılabilirliği ve sinaptik esnekliği düzenler (Hill ve ark., 2008). mTOR yolağı, besin algılamayı leptin sinyallemesiyle

bütünleştirerek enerji homeostazını düzenler (Cota ve ark., 2006).

MAPK/ERK yolağı: Fosforile edilmiş Tyr985, MAPK/ERK kaskadını başlatır. ERK sinyallemesi, leptinin hücre çoğalması ve üreme üzerindeki etkilerine aracılık eder (Zhao, Huan, Gupta, Pal, & Sahu, 2002).

AMPK (AMP ile aktive olan protein kinaz) yolağı: Leptin, hipotalamusta AMPK'ı inhibe ederek besin alımını azaltır ve enerji harcamasını artırır (Minokoshi ve ark., 2004).

Sitokin Sinyallemesinin Baskılayıcısı 3 (SOCS3) feedback inhibisyonu: Leptin, SOCS3'ü indükler (Howard ve ark., 2004). SOCS3 aşırı ekspresyonunun leptin direncinde rolü olduğu düşünülmektedir (Mori ve ark., 2004). LEPRb, ARC'nin ve AVPV'nin Kiss1 nöronlarında yüksek seviyede ifade edilir. Burada leptin, kisspeptin salınımını uyarır ve GnRH nöronlarını aktive eder (Smith ve ark., 2006a). Hipofizde leptin, STAT3 ve PI3K yolları aracılığıyla gonadotropin (LH/FSH) salgılanmasını artırır (Yu, Kimura, Walczewska, Karanth, & McCann, 1997). Gonadlar üzerindeki doğrudan etkiler arasında ERK ve Akt aracılığıyla Leydig ve granüloza hücrelerinde steroidogenez teşviki yer alır (Tena-Sempere, 2007).



Şekil 16. Leptin sinyal yolakları (Ahima & Osei, 2004)

2.3.1.4.4. Leptinin fonksiyonları

Leptin, başlangıçta tokluk sinyali olarak tanımlanmıştır ancak bunun ötesinde, sistemik etkilere sahip bir pleiotropik hormondur. Ağırlıklı olarak beyaz yağ dokusu

(WAT) tarafından üretilen leptin, hem merkezi hem de çevresel mekanizmalar aracılığıyla önemli bir metabolik düzenleyici, nöroendokrin modülatör ve immünomodülatör olarak işlev görür (Zhang ve ark., 1994; Friedman, & Halaas, 1998).

Leptin, enerji dengesini koruyan yağ- beyin feedback döngüsünün temel taşıdır. Taşıma sistemi aracılığıyla kan- beyin bariyerini geçerek, hipotalamusta bulunan ARC'de LEPRb'ye bağlanır, oreksijenik NPY/AgRP nöronlarını inhibe eder; anoreksijenik POMC/CART (kokain ve amfetaminle düzenlenen transkript) nöronlarını uyarır. Böylece tokluk hissi yaratarak iştahı bastırır (Cowley ve ark., 2001). Ayrıca leptin, beslenme durumunu üreme işlevine bağlayarak ergenlik ve doğurganlık için uyarıcı bir sinyal görevi görür. Hipotalamusta, ARC ve AVPV'deki kisspeptin nöronlarını uyarır ve GnRH salınımını tetikler (Smith ve ark., 2006a). Ayrıca gebelik sırasında plasental anjiyogenezi ve fetal büyümeyi düzenler (Henson, & Castracane, 2006).

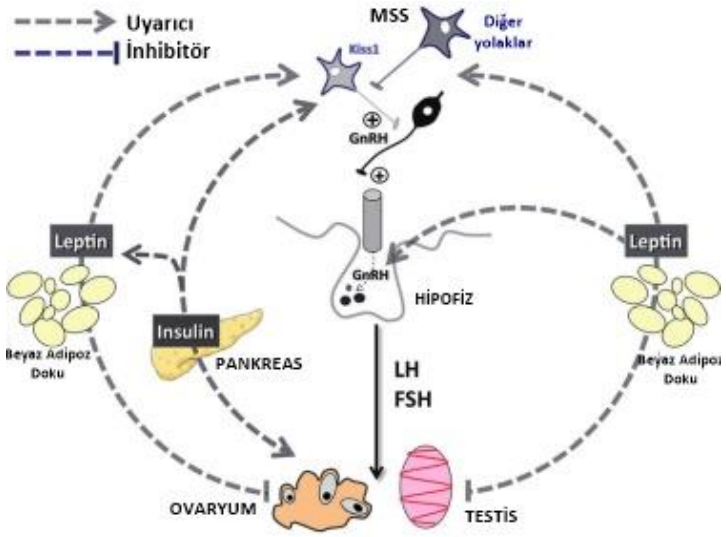
Leptin, metabolizma ve immün sistem arasında köprü kuran proinflamatuar bir sitokindir. Doğuştan gelen immün sistemde, makrofaj fagositozunu artırır ve STAT3 aracılığıyla yardımcı T hücresi 1 (Th1) tepkilerini destekler (La Cava, & Matarese, 2004).

2.3.1.4.5. Leptin ve HPG ekseni

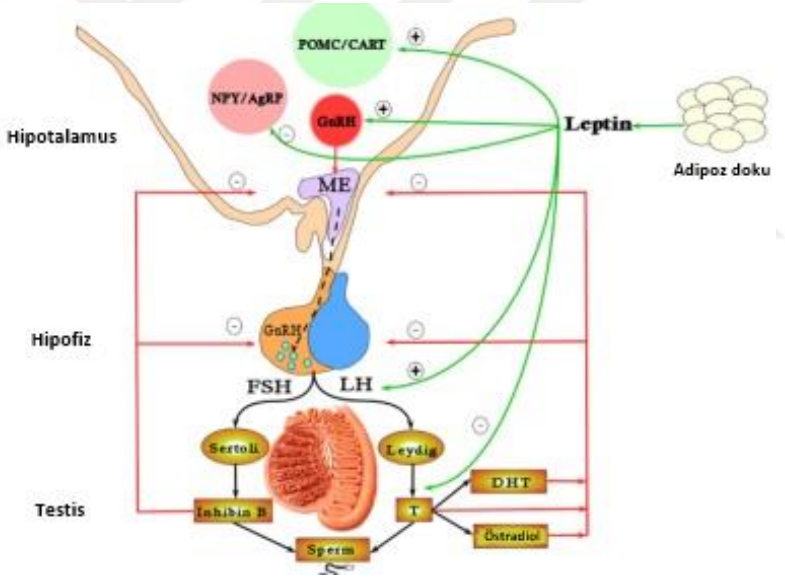
Leptin, GnRH nöronlarının kendilerinin işlevsel leptin reseptörleri (LEPRb) olmaması nedeniyle, hipotalamik nöronlar aracılığıyla dolaylı olarak GnRH salgılanmasını uyarır (Quennell ve ark., 2009).

Leptin, ARC'de (Kiss1ARC) ve anteroventriküler periventriküler çekirdekte (Kiss1AVPV) LEPRb ekspresyonu gösteren kisspeptin nöronları üzerinde etki eder (Şekil 17). Bu nöronlar GnRH terminallerine projeksiyon yapar, Kiss1ARC nöronları bazal GnRH salınımını korur ve Kiss1AVPV nöronları ovulasyon öncesi LH dalgalanmasını tetikler (Smith ve ark., 2006a). ob/ob (leptin eksikliği olan) fareler, Kiss1 ekspresyonu göstermez, leptin tedavisiyle bu durum iyileştirilir (Quennell ve ark., 2011).

Ayrıca leptin, GnRH'yi baskılayan oreksijenik NPY/AgRP nöronlarını inhibe ederek (Han, Xia, & Wu, 2018); veya α-MSH salınımını uyararak POMC nöronları aracılığıyla GnRH salgılanmasını artırabilir (Şekil 18) (Hill ve ark., 2008).



Şekil 17. Leptinin kisspeptin nöronları ile ilişkisi (Tena-Sempere, 2013)



Şekil 18. Leptinin HPG ekseni üzerinde etkisi (Zhang, & Gong, 2018)

2.3.1.4.6. Leptin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Artan yağ kütlesi doğrudan leptin mRNA ve serum seviyeleriyle ilişkilidir (Considine ve ark., 1996). Ayrıca akut insülin uygulaması, insanlarda leptin salgılanmasını artırır (Kolaczynski ve ark., 1996).

ERα yoluyla yağ dokusunda E_2, leptin seviyesini artırır. Kadınlarda, erkeklere kıyasla daha yüksek leptin seviyeleri bulunur (Shi, Seeley, & Clegg, 2009).

TNF-α ve IL-1β gibi proinflamatuar sitokinlerde, enfeksiyon veya akut inflamasyon sırasında leptin seviyesini artırır (Grunfeld ve ark., 1996).

2.3.1.4.7. Leptin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Uzun süreli açlıkta, 12-24 saat içinde leptinde hızlı bir düşüş görülür (Boden, Chen, Mozzoli & Ryan, 1996). Ayrıca testosteron, erkeklerde leptin salgılanmasını azaltır (Jockenhövel ve ark., 1997).

2.3.1.4.8. Leptin ve POY

Leptin eksikliği, hipotalamik kisspeptin sinyallemesini azaltır, GnRH pulsatilitesini ve ovaryum fonksiyonunu bozar (Smith ve ark., 2006a). Hayvan çalışmaları leptin eksikliğinin foliküler atreziye hız kazandırdığını göstermektedir (Martins ve ark., 2021).

Paradoksal olarak, yüksek leptin (obezitede yaygındır), leptin direnciyle birlikte bozulmuş leptin sinyallemesine sebep olur ve HPG ekseninin işlevini bozar (Myers ve ark., 2008). Ayrıca yüksek leptin seviyeleri granüloza hücrelerinde oksidatif stresi ve apoptozu artırarak POY'ye katkıda bulunabilir (Feijing, Sun, Cheng, & Dong, 2025).

2.3.1.4. Glutamat

2.3.1.5.1. Glutamatın tanımı ve tarihçesi

Glutamat (L- glutamik asit), memeli MSS'de birincil uyarıcı nörotransmitter olarak görev yapan, esansiyel olmayan, asidik bir aminoasittir. Sinaptik iletimde, nöroplastisitede, öğrenmede ve hafızada temel rol oynar (Zhou, & Danbolt, 2014). Nörolojik işlevlerinin ötesinde, glutamat, Krebs döngüsünde önemli bir metabolik aracıdır ve glutamin ve GABA gibi diğer aminoasitlerin sentezi için bir öncüdür (Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E., 2013).

Glutamat ilk olarak 1866 yılında buğday gluteninden Alman kimyager Karl Heinrich Ritthausen tarafından izole edildi. Bu nedenle glutenden türetilen glutamik asit adı verilmiştir (Ritthausen, 1913). Başlangıçta glutamat, Hayashi'nin nöronal aktivite üzerindeki uyarıcı etkilerini gösterdiği 1954 yılına kadar yalnızca metabolik bir bileşik olarak kabul edildi (Hayashi, 1954). 1960-1970'lerde, elektrofizyolojik çalışmalar glutamatın sinaptik iletimdeki rolünü doğruladı ve onu diğer uyarıcı maddelerden ayırdı (Curtis & Watkins, 1960). Watkins ve Evans tarafından N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerinin keşfi, glutamatın reseptöre özgü etkilerinin

anlaşılmasında bir dönüm noktası oldu (Watkins, & Evans, 1981). 1980-1990'larda glutamat reseptör alt tiplerinin klonlanması, nörobiliminde devrim yarattı (Hollmann, & Heinemann, 1994). Carlsson, Greengard ve Kandel'e verilen 2000 yılı Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü, glutamatın sinaptik plastisite ve hafıza oluşumundaki rolünü vurguladı (Gispen, 2000).

Son araştırmalar glutamat düzensizliğini, nörolojik bozukluklarla (epilepsi, şizofreni) ve üreme işlev bozukluğuyla ilişkilendirmiştir (Maffucci, & Gore, 2009; Su, Wang, Han, & Shen, 2022).

2.3.1.5.2. Glutamatın moleküler yapısı

Glutamat ($C_5H_9NO_4$), IUPAC adı 2-aminopentandioik asit olan dikarboksilik bir amino asittir ve bir α-amino grubu ($–NH_2$), iki karboksil grubu (–COOH) içeren beş karbonlu bir omurga ile karakterize edilir. Fizyolojik pH'ta, glutamat genel olarak bir zwitter iyon olarak bulunur. Zwitter iyon, aynı molekül içinde hem pozitif hem de negatif yüke sahip olan ve net elektriksel yükü sıfır olan iyonlara verilen isimdir. Bu zwitter iyonik form, çözünürlüğü ve biyolojik hedeflerle etkileşimi için kritik öneme sahiptir (Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E., 2013).

Glutamatın yan zincirinin esnekliği ($–CH_2–CH_2–$COOH), glutaminaz gibi enzimlere ve NMDA ve AMPA alt tipleri gibi reseptörlere bağlanmayı kolaylaştırarak konformasyonel değişikliklere izin verir (Armstrong & Gouaux, 2000).

2.3.1.5.3. Glutamat reseptörleri ve sinyal yolakları

Glutamat reseptörleri (Şekil 19), iyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörleri olarak ikiye ayrılır.

İyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR'ler), hızlı uyarıcı sinaptik iletimi sağlayan ligand kapılı iyon kanallarıdır. NMDA reseptörleri, AMPA reseptörleri ve Kainat reseptörleri, iyonotropik glutamat reseptörleri sınıfında yer alır.

NMDA reseptörleri (NMDAR'ler), aktivasyonu için glutamat ve glisin/D-serinin eşzamanlı bağlanmasını gerektiren, tipik olarak GluN1 ve GluN2 alt birimlerinden oluşan heterotetramerik komplekslerdir. Bu reseptörler, alt birimine göre magnezyum (Mg^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) ile bloklanabilir. Ca^{2+} akışıyla, sinaptik plastisite için kritik olan sinyal iletim yolları aktive olur (Huganir, & Nicoll, 2013). Hipotalamusta glutamat, ergenliği başlatmak ve üreme döngülerini sürdürmek için gerekli bir süreç

olan GnRH salgılanmasını uyarmak için NMDAR'lar aracılığıyla etki eder (Eyigor, Lin, & Jennes, 2004).

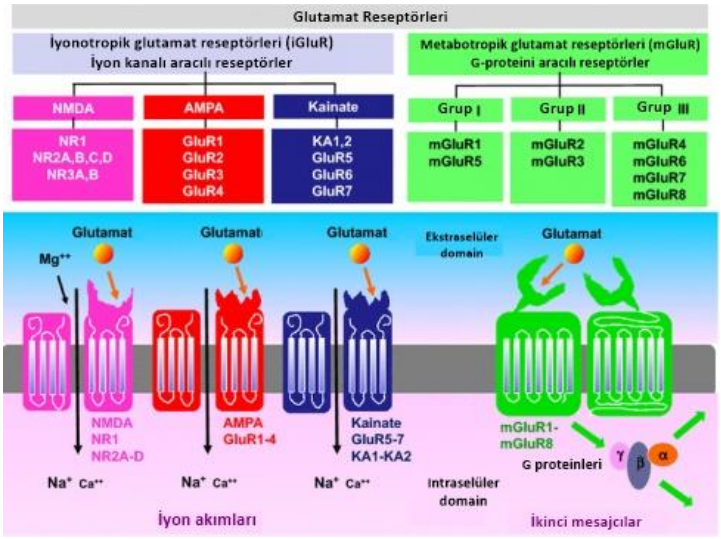
AMPA reseptörleri (AMPAR'ler), GluA1-4 alt birimlerine sahip tetramerik yapılardır. Hızlı uyarıcı iletime aracılık eder ve taşıma ve iletkenlik özellikleri fosforilasyon ve yardımcı proteinler tarafından düzenlenir (Willard, & Koochekpour, 2013). Hipofiz düzeyinde, AMPAR aktivasyonu, LH ve FSH salınımını artırır (Brann & Mahesh, 1997).

Kainat reseptörleri (KAR'ler), daha az miktarda bulunurlar. GluK1-5 alt birimleri aracılığıyla hem presinaptik nörotransmitter salınımını hem de postsinaptik uyarılabilirliği düzenler.

Metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR'ler), G proteinine bağlı reseptörlerdir. İkinci haberciler aracılığıyla sinaptik aktiviteyi düzenler. Grup I, Grup II ve Grup III reseptörler, metabotropik glutamat reseptörleri sınıfındadır.

Grup I (mGluR1/5) reseptörler, Gq proteinlerine bağlanır ve PLC'yi aktive eder. Bu da sırasıyla hücre içi Ca^{2+}'u harekete geçiren ve PKC'yi aktive eden IP_3 ve DAG oluşumuna yol açar. Bu reseptörler, nöronal uyarılabilirliği artırır ve Src kinaz aracılı fosforilasyon yoluyla NMDAR akımlarını güçlendirir.

Grup II (mGluR2/3) ve grup III (mGluR4/6/7/8) reseptörler, Gi/o-bağlantılıdır, cAMP üretimini ve PKA aktivitesini azaltmak için adenilat siklazı inhibe eder ve böylece sinaptik iletimi baskılar. Bu reseptörler, aşırı glutamat salınımını sınırlamak için otoreseptörler olarak hareket eder. Bu mekanizma, nöroproteksiyonda ve anksiyete bozukluklarının tedavisinde rol oynar (Willard, & Koochekpour, 2013; Levite, 2017).



Şekil 19. Glutamat reseptörleri ve sinyal yolakları (Levite, 2017)

2.3.1.5.4. Glutamatın fonksiyonları

Glutamat, sinaptik iletimlerin yaklaşık %90'ını gerçekleştiren, MSS'deki birincil uyarıcı nörotransmitterdir. İyonotropik (NMDA, AMPA, Kainat) ve metabotropik reseptörleri (mGluR'ler) aktive ederek nöral fonksiyonları düzenler (Egbenya, Aidoo, & Kyei, 2021). NMDA reseptörüne bağlı uzun vadeli potansiyasyon (LTP), hipokampal hafıza oluşumu için kritik öneme sahiptir (Huganir, & Nicoll, 2013).

Glutamat, ayrıca amino asit metabolizması ve enerji üretimi arasında köprü kurar. Glutamatın GAD65/67 tarafından dekarboksilasyonu, ana inhibitör nörotransmitter olan GABA'yı üretir (Soghomonian, & Martin, 1998).

2.3.1.5.5. Glutamat ve HPG ekseni

Glutamat, GnRH nöronlarını hem doğrudan hem de dolaylı yollarla aktive ederek salınımlarını düzenleyen önemli bir nörotransmitterdir. GnRH nöronları, iyonotropik glutamat reseptörleri olan NMDA ve AMPA reseptörlerini ifade eder. Bu reseptörlerden özellikle NMDA reseptörlerinin uyarılması, hücre içine Ca^{2+} akışını artırarak GnRH salınımını doğrudan tetikler (Eyigor ve ark., 2004).

Bunun yanı sıra glutamaterjik sistem, dolaylı olarak da GnRH salınımını düzenler. Glutamaterjik nöronlar, ARC ve AVPV'de bulunan kisspeptin nöronlarıyla sinaps kurar ve bu etkileşim sonucunda kisspeptin aracılığıyla GnRH nöronları uyarılır (Uenoyama ve ark., 2021). Ergenlik döneminde artan glutamaterjik aktivite, GnRH nöronlarının epizodik salınımını güçlendirerek pubertal aktivasyonun başlamasında

kritik rol oynar (Clarkson ve ark., 2017).

2.3.1.5.6. Glutamat ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Östrojen, hipotalamusta NMDA reseptör ekspresyonunu artırır (Tang, Ji, & Traub, 2008).

2.3.1.5.7. Glutamat ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Progesteron, hipokampüste, NMDA reseptör alt birimlerini (GluN1) down regüle eder (Smith ve ark., 1998b).

2.3.1.5.8. Glutamat ve POY

Aşırı glutamat, ovaryum NMDA reseptörlerini aktive ederek Ca^{2+} aşırı yüklenmesini ve mitokondriyal disfonksiyonu tetikleyerek hücre apoptozuna yol açabilir. Bu da folikül atrezisiyle sonuçlanabilir. Ayrıca glutamat kaynaklı ROS üretimi, foliküler tükenmeyi hızlandırabilir ve POY'ye katkıda bulunabilir (Atlante, Calissano, Bobba, Giannattasio, Marra & Passarella, 2001).

Hipotalamustaki glutamat hipofonksiyonu, POY ile ilişkili hipoöstrojenizme katkıda bulunarak GnRH nöron uyarılabilirliğini bozabilir. Glutamat, GnRH salınımını düzenleyen kisspeptin nöronlarını uyarır. Bozulmuş kisspeptin sinyallemesi, POY'ye sebep olabilir (Uenoyama ve ark., 2021).

2.3.2. Hipotalamik baskılayıcı nöropeptidler

NPY, dinorfin, RFRP ve GABA, hipotalamik baskılayıcı nörepeptidler arasında yer alır ve GnRH salınımını azaltırlar.

2.3.2.1. Nöropeptid Y

2.3.2.1.1. NPY'nin tanımı ve tarihçesi

NPY, 36 aminoasitten oluşan bir peptittir ve pankreas polipeptidi (PP) ailesine aittir. NPY, merkezi ve periferik sinir sisteminde en bol bulunan nöropeptidlerden biridir.

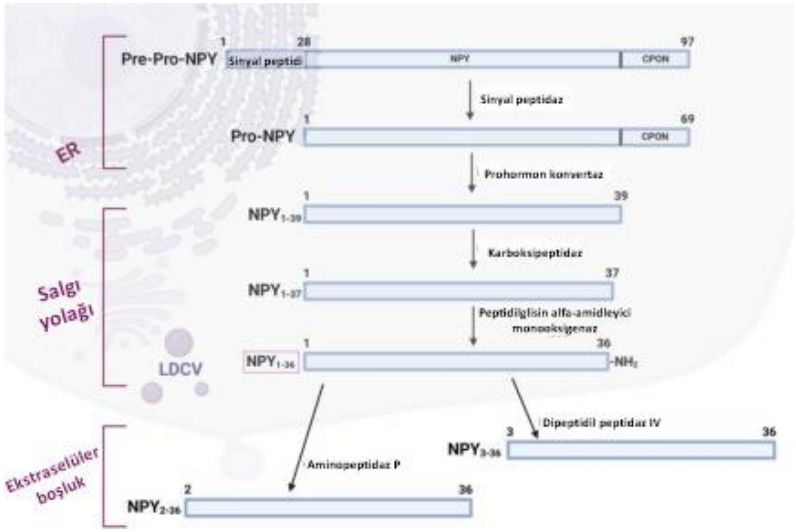
İlk olarak 1982'de, Tatemoto ve meslektaşları tarafından domuz beyin özütlerinden izole edilmiştir ve güçlü vazokonstrüktif özellikleri tanımlanmıştır.

Tatemato ve arkadaşları, bu peptide, hem N- hem de C- terminalindeki tirozin (Y) kalıntılarından dolayı Nöropeptid Y ismini vermişlerdir (Tatemoto, Carlquist, & Mutt, 1982). NPY, beyinde, özellikle hipotalamus, amigdala ve beyin sapında; sempatik sinir sistemi ve adrenal medulla gibi periferik dokularda ifade edilmektedir. Enerji homeostazı, stres tepkileri ve üreme işlevi gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır (Pedrazzini, Pralong, & Grouzmann, 2003).

2.3.2.1.2. NPY'nin moleküler yapısı

NPY, yapısal olarak, PP- katlanması olarak bilinen, karakteristik bir tersiyer yapı oluşturan, çoklu disülfür bağlarıyla stabilize edilmiş saç tokası benzeri bir yapıya sahiptir. Bu yapısal motif, biyolojik aktivitesi ve reseptör bağlanma özgüllüğü için önemli bir role sahiptir.

NPY, aktif peptidi üretmek için parçalanan, 97 aminoasit uzunluğunda öncü bir pre-pro-hormon olarak sentezlenir. Bu öncü form, endoplazmik retikulumda işlenir ve 28 amino asitlik bir sinyal dizisinin çıkarılmasıyla, 69 amino asitlik bir peptit olan Pro-NPY oluşur. Daha sonra, Pro-NPY golgi aygıtına, ardından trans-golgiye taşınır ve salgı yoluna doğru hareket eder. Bir hücredeki NPY'nin çoğu büyük yoğun çekirdekli veziküllerde (LDCV) depolanır (Şekil 20) NPY'nin sadece son, amidleştirilmiş formu olan NPY_{1-36} biyolojik olarak aktiftir (Tatemoto ve ark., 1982; von Hörsten ve ark., 2004).



Şekil 20. NPY sentezi ve işlenmesi (Sigorski ve ark., 2025)

2.3.2.1.3. NPY reseptörleri

NPY, etkilerini, Y1, Y2, Y4, Y5 ve Y6'yı (Y6 insanlarda işlevsizdir) içeren bir GPCR ailesiyle etkileşimleri yoluyla gösterir. Bu reseptörler, çeşitli dokularda farklı şekillerde ifade edilir ve farklı fizyolojik tepkilerle sonuçlanır. Y1 ve Y5 reseptörleri, özellikle hipotalamusta ve hipofiz bezinde yüksek seviyelerde ifade edilir ve üreme işlevinde önemlidir (Lin, Boey, & Herzog, 2004).

Y1 reseptörü, postsinaptiktir ve NPY'nin besin alımını uyarma ve üremeyi düzenleme gibi birçok merkezi etkisine aracılık eder. Y1 reseptörünün aktivasyonu, adenilat siklazı inhibe ederek hücre içi cAMP seviyeleri azaltır ve ayrıca PLC'yi aktive ederek hücre içi Ca^{2+} seviyelerini artırarak etki gösterebilir (Pedrazzini ve ark., 2003).

Y2 reseptörü, presinaptiktir ve bir otoreseptör olarak hareket ederek NPY ve diğer nörotransmitterlerin salınımını baskılar. NPY sinyallemesinin negatif feedback düzenlemesinde ve enerji dengesini düzenlemede rol oynar (Broberger, Landry, Wong, Walsh & Hökfelt, 1997).

Y4 reseptörü, PP için yüksek bir afiniteye sahiptir ve bu reseptörün üremeyle ilişkisi daha az incelenmiştir.

Y5 reseptörü, Y1 reseptöründe olduğu gibi, besin alımını uyarmada rol oynar. Ayrıca GnRH salgılanmasının ve üreme fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynar (Lin ve ark., 2004).

2.3.2.1.4. NPY'nin fonksiyonları

NPY, hipotalamusun ARC'sinde ve PVN'de yüksek seviyede ifade edilir ve burada enerji dengesini ve üreme işlevini düzenlemede önemli bir rol oynar (Kalra ve ark., 1999). ARC'deki NPY nöronları, GnRH nöronlarına projeksiyon yaparak üreme fonksiyonunu düzenler (Crown, Clifton, & Steiner, 2007). Ayrıca NPY, ovaryumda granüloza hücrelerinde (Urata, Salehi, Lima, Osuga, & Tsang,2020); testiste Leydig hücrelerinde ifade edilir ve steroidogenezi düzenler (Körner, Waser, Thalmann, & Reubii, 2011)

Ayrıca NPY, immün sistem hücrelerinde ifade edilir ve immün yanıtları düzenler (Wheway ve ark., 2005).

2.3.2.1.5. NPY ve HPG ekseni

HPG ekseni, üreme fonksiyonunun merkezi düzenleyicisidir ve NPY bu sistemde önemli bir nöromodülatördür (Şekil 21).

ARC'de bulunan NPY nöronları, hipotalamusun preoptik bölgesindeki GnRH nöronlarına projeksiyon yapar ve GnRH salınımını düzenler. NPY, fizyolojik amacına bağlı olarak GnRH salgılanmasını sağlayabilir veya engelleyebilir. Örneğin; uzun süreli açlık veya kalori kısıtlaması gibi düşük enerji dengesi dönemlerinde NPY seviyeleri artar ve GnRH salınımını baskılayarak üreme fonksiyonunu engeller. Bu mekanizma, enerjinin gebeliği ve emzirmeyi desteklemek için yetersiz olduğu durumlarda çalışarak üremeyi baskılar (Crown ve ark., 2007).

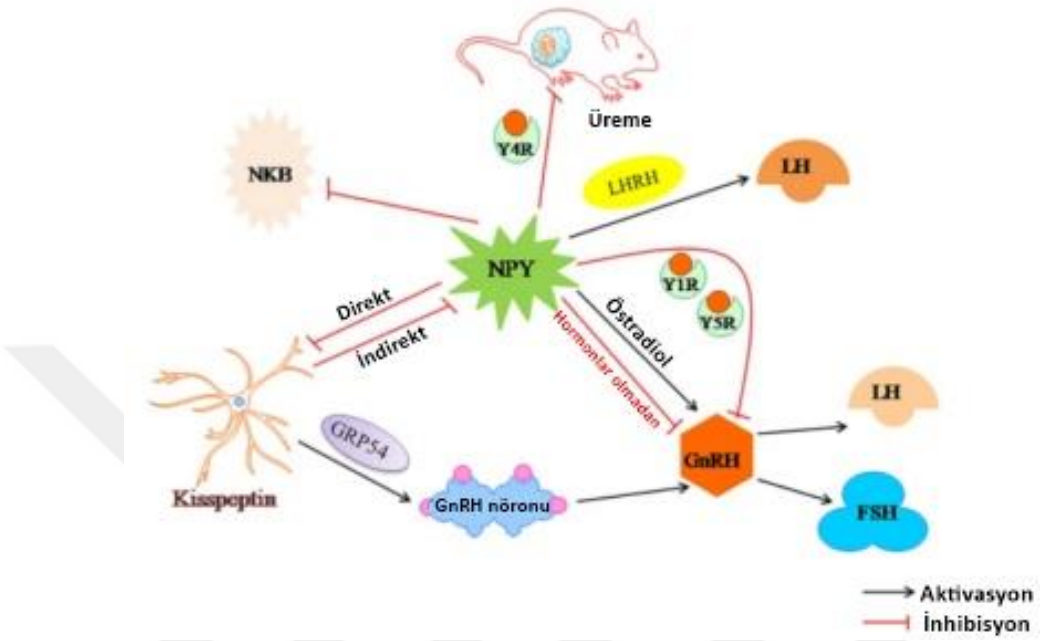
Ayrıca NPY, HPG ekseninde diğer nöropeptidlerle etkileşimleri yoluyla da GnRH salınımını düzenleyici etkilere sahiptir.

Kisspeptin, GnRH nöronlarının temel düzenleyicilerinden biri olup bazı hipotalamik nöronlarda NPY ile birlikte eksprese edilir. Bu iki nöropeptid, özellikle ergenliğin zamanlaması ve GnRH'nin pulsatil salınımının kontrolü açısından etkileşim halindedir. NPY, enerji eksikliği gibi metabolik stres durumlarında kisspeptin sinyalini baskılayarak GnRH salınımını azaltabilir ve bu durum ergenliğin gecikmesine neden olabilir (Castellano ve ark., 2006). Bu etkileşim, enerji dengesi ile üreme ekseninin entegrasyonunda kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca 2022 yılında yapılan bir çalışmada, polikistik over sendromu (PKOS) hastalarının serumlarında anlamlı şekilde yüksek NPY düzeyleri saptanmış ve bu artışın kisspeptin düzeyleriyle negatif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Guzelkas, Orbak, Doneray, Ozturk, & Sagsoz, 2022).

Leptin, yağ dokusu tarafından özellikle tokluk durumunda salgılanan ve hipotalamusa enerji yeterliliği sinyali ileten bir hormondur. Bu sinyal, üreme fonksiyonlarının sürdürülebilirliği açısından önemlidir. Leptin, ARC'deki NPY ekspresyonunu baskılayarak GnRH salınımını destekler. Böylece leptin, enerji dengesi yeterli olduğunda üreme ekseninin aktive edilmesine olanak sağlar ve enerji eksikliği koşullarında bu sistemi baskılar (Ahima, Saper, Flier & Elmquist, 2000).

NPY ifadesi yalnızca metabolik sinyallerle değil, aynı zamanda seks steroidleriyle de düzenlenir. Özellikle östrojen, hipotalamus düzeyinde NPY ifadesini artırabilir. Bu artış, kadınlarda ovulasyon öncesi östrojen düzeylerinin yükseldiği dönemde,

östrojenin GnRH salınımı üzerindeki pozitif feedback etkisine katkı sağlar. Dolayısıyla NPY, seks steroidleri aracılığıyla GnRH salınımının zamanlamasında dolaylı bir düzenleyici rol oynar (Xu, Hill, & Levine, 2000).



Şekil 21. NPY ve üreme arasındaki ilişki (Chen ve ark., 2023)

2.3.2.1.6. NPY ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Uzun süreli açlık veya kalori kısıtlaması, özellikle hipotalamusun ARC bölgesinde NPY ekspresyonunu önemli ölçüde artırır. NPY' deki bu artış, enerjiyi geri kazandırmak için besin alımını uyarır ve enerji kullanımını azaltır (Kalra ve ark., 1999).

Mide tarafından salgılanan bir açlık hormonu olan ghrelin de, hipotalamusta NPY ekspresyonunu artırır ve besin alımını ve enerji depolamasını destekler (Kohno, Gao, Muroya, Kikuyama, & Yada, 2003).

2.3.2.1.7. NPY ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Leptin, hipotalamusta NPY ekspresyonunu baskılayarak iştahı azaltır ve enerji kullanımını artırır. Bu etkiye, ARC'deki NPY nöronlarındaki leptin reseptörleri aracılık eder (Ahima ve ark., 2000).

İnsülin, hipotalamusta (özellikle ARC'de) NPY ekspresyonunu azaltır. Bu etki,

insülinin anoreksijenik (iştahı baskılayan) rolüne katkıda bulunur (Schwartz ve ark., 1992). Aşırı beslenme veya aşırı kalori alımı hipotalamustaki NPY ekspresyonunu azaltarak iştahın azalmasını ve enerji harcanmasının artmasını sağlar (Kalra ve ark., 1999).

Östrojen, hipotalamusta NPY ifadesini baskılar bu etki, besin alımı ve üreme fonksiyonunun düzenlenmesine katkıda bulunur (Dhillon, & Belsham, 2011).

α-MSH gibi melanokortinler de, hipotalamusta NPY ekspresyonunu baskılar (Cowley ve ark., 2001).

2.3.2.1.8. NPY ve POY

NPY, metabolizma ve üreme süreçlerinin iletişiminde önemli bir rol oynar. Yetersiz beslenme veya aşırı egzersiz gibi negatif enerji dengesi durumları, yüksek NPY seviyeleri ve baskılanmış GnRH salınımı ile ilişkilidir ve bu da amenore ve ovaryum disfonksiyonuna yol açar. Bu durumlar POY ile benzerlikler gösterir ve NPY düzensizliğinin POY'nin patogenezine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Crown ve ark., 2007).

Leptin eksikliği veya leptin direnci koşullarında, NPY seviyeleri yükselir ve bu da baskılanmış GnRH salınımına ve ovaryum disfonksiyonuna yol açarak POY gelişiminde rol oynayabilir (Ahima ve ark., 2000).

Kronik stres, hipotalamus ve amigdalada yükselmiş NPY seviyelerine sebep olur. Stres kaynaklı NPY düzensizliği, GnRH salınımını baskılayabilir ve ovaryum fonksiyonunu bozarak POY gelişimine katkıda bulunabilir. Bu mekanizma, psikolojik stres ile POY arasındaki ilişkiyi açıklayabilir.

Otoimmün bozukluklar da POY'nin yaygın bir nedenidir. NPY'nin immünomodülatör etkileri vardır; sitokin üretimini ve immün tepkileri düzenler. NPY sinyalizasyonunun düzensizliği POY'de otoimmün aracılı ovaryum hasarına sebep olabilir (Wheway ve ark., 2005).

Sirotkin ve ark. yaptığı bir çalışmada, domuz granüloza hücrelerinde, NPY'nin proliferasyonu azalttığı; apoptozu ise arttırıdığı gösterilmiştir. Bu çalışmayla NPY'nin doğrudan ovaryum üzerinde etkisi olduğu ve ovaryan yetmezliğe sebep olabileceği belirlenmiştir (Sirotkin, Kardošová, Alwasel, & Harrath, 2015).

2.3.2.2. Dinorfin

2.3.2.2.1. Dinorfinin tanımı ve tarihçesi

Dinorfin, endojen bir opioid peptididir. β- endorfinler ve enkefalinleri de içeren opioid nöropeptitler ailesine aittir. İlk olarak 1979'da, Goldstein ve arkadaşları tarafından domuz hipofiz bezinden izole edilmiştir ve kappa-opioid reseptörü (KOR) için benzersiz bir afiniteye sahip güçlü bir opioid peptidi olarak tanımlanmıştır. "Dinorfin" adı, güçlü biyolojik aktivitesini yansıtan, Yunanca güç anlamına gelen "dynamis" kelimesinden türetilmiştir (Goldstein, Tachibana, Lowney, Hunkapiller, & Hood, 1979).

Dinorfin, merkezi ve periferik sinir sistemlerinde yaygın olarak bulunur ve hipotalamus, hipokampüs, omurilik ve adrenal bezlerde yüksek seviyelerde ifade edilir. Endojen opioid sisteminin ve ağrı, stres, ödül ve üreme işlevlerinin anlaşılmasında oldukça dikkat çeken bir peptid olmuştur (Watson, Akil, Ghazarossian, & Goldstein, 1981).

2.3.2.2.2. Dinorfinin moleküler yapısı

Dinorfin, PDYN geni tarafından kodlanan prodinorfin öncü proteininin parçalanmasıyla oluşur. Dinorfin A (1-17), en kapsamlı şekilde incelenen formudur ve 17 amino asitten oluşur (Chavkin, James, & Goldstein, 1982). N-terminal dizisi (Tyr-Gly-Gly-Phe), tüm opioid peptitleri arasında korunur ve reseptör bağlanması ve aktivasyonu için kritik öneme sahiptir.

Dinorfin A' nın (1-17) yapısı, KOR ile etkileşimi için çok önemli olan bir helezon bölgesi ve esnek bir C-terminali içerir. Dinorfin A'da çok sayıda bulunan bazik kalıntılar (arginin ve lizin), KOR' ye yüksek bir afinite sağlar ve nöronal uyarılabilirliği ve nörotransmitter salınımını düzenleme yeteneğine katkıda bulunur (Day ve ark., 1998).

2.3.2.2.3. Dinorfin reseptörleri ve sinyal yolakları

Dinorfin, etkilerini esas olarak, mu-opioid reseptörleri (MOR) ve delta-opioid reseptörlerini (DOR) de içeren opioid reseptör ailesinin bir üyesi olan KOR aracılığıyla gösterir. KOR, G proteinine bağlı bir reseptördür (Mansour, Fox, Akil, & Watson, 1995). OPRK1 geni tarafından kodlanır ve diğer GPCR'ler gibi KOR de,

hücre dışı bir N- terminal ve hücre içi bir C- terminal yapısına sahiptir (Metzger, Paterlini, Ferguson, & Portoghese, 2001).

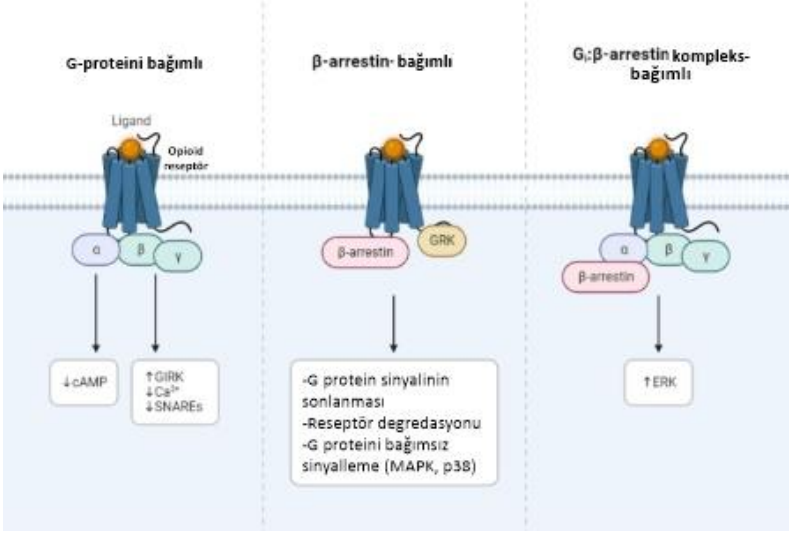
KOR, merkezi ve periferik sinir sisteminde yaygın olarak bulunur. Beyinde; hipotalamus, amigdala, nükleus akumbes ve prefrontal kortekste, yüksek seviyede KOR ifadesi bulunur. Bu bölgeler ağrı modülasyonunda, ödül mekanizmalarında, stres tepkilerinde ve duygusal düzenlemede rol oynar (Mansour ve ark., 1995).

KOR, hipotalamusta, GnRH nöronlarında ve kisspeptin nöronlarında ifade edilir ve burada HPG ekseninin düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (Goodman ve ark., 2007).

KOR, inhibitör G proteinlerine (Gi/o) bağlanır ve dinorfin tarafından aktive edildiğinde, AC'ın inhibisyonuna yol açarak hücre içi cAMP seviyelerini azaltır ve protein kinaz A'nın aktivitesini düzenler. cAMP seviyelerindeki bu azalma, cAMP'ye bağlı sinyal yollarının inhibisyonuna sebep olur (Al-Hasani & Bruchas, 2011).

Adenil siklazı (AC) inhibe etmenin yanı sıra, KOR aktivasyonu G proteinine bağlı potasyum kanallarının (GIRK) açılmasına ve voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının inhibisyonuna yol açabilir. GIRK kanallarının açılması nöronların hiperpolarizasyonuna, uyarılabilirliklerinin azalmasına ve nörotransmitter salınımının inhibe edilmesine neden olur (Williams ve ark., 2013).

KOR sinyallemesi ayrıca, MAPK yollarının aktivasyonunu da içerir. Bu yolaklar (Şekil 22), gen ifadesindeki değişiklikler, sinaptik plastisite ve nöronal sağkalım gibi KOR aktivasyonunun uzun vadeli etkilerinde önemli roller oynar (Bruchas, Land, & Chavkin, 2010).



Şekil 22. Opioid reseptör sinyal yolakları (BioRender ile oluşturuldu)

2.3.2.2.4. Dinorfinin fonksiyonları

Dinorfin, çok çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde kritik bir rol oynar. Esas olarak KOR aracılığıyla etki eder, ancak daha yüksek konsantrasyonlarda MOR ve DOR ile de etkileşime girebilir (Chavkin ve ark., 1982).

Dinorfin, hem merkezi hem de çevresel etki ederek ağrı algısının modülasyonunda önemli bir rol oynar. Omurilik ve beyinde, KOR'ye bağlanarak glutamat ve substance P gibi uyarıcı nörotransmitterlerin salınımını inhibe eder ve güçlü analjezik etkiler gösterir (Vanderah ve ark., 2001. Paradoksal olarak, dinorfine kronik maruziyet hiperaljeziye (ağrıya karşı artan hassasiyet) ve allodiniye (normalde ağrıya neden olmayan uyaranlardan kaynaklanan ağrı) yol açabilir. Bu etki, opioid olmayan sinyal yollarının aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (Wang, Ma, Chabot, & Quirion, 2010)

Dinorfin, ödül mekanizmasında rol oynayan önemli bir beyin bölgesi olan nükleus akumbensteki dopamin salınımını inhibe eder. Bu etki, dopamin nöronlarının uyarılabilirliğini azaltan ve kötüye kullanılan ilaçların güçlendirici etkilerini sınırlayan KOR aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşir (Shippenberg, Zapata, & Chefer, 2007).

Ayrıca dinorfin, üreme fonksiyonunu kontrol eden HPG ekseninde, seks steroidlerinin negatif feedback mekanizmasında rol oynar. Hipotalamusta, GnRH nöronlarındaki KOR'ye bağlanarak GnRH salgılanmasının inhibitör modülatörü olarak etki eder. Bu, LH ve FSH düzenlenmesi için kritik olan GnRH'nin pulsatil salınımını baskılar (Goodman ve ark, 2007).

2.3.2.2.5. Dinorfin ve HPG ekseni

Dinorfin, GnRH salgılanmasının inhibitör modülatörü olarak görev yapar. Bu inhibitör etki, KOR aktivasyonu aracılığıyla gerçekleşir (Navarro ve ark., 2009). KOR aktivasyonuyla birlikte, GIRK kanalları açılır ve voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarının inhibisyonuyla, GnRH nöronları hiperpolarize olur ve GnRH salınımı azalır (Williams ve ark., 2013).

Dinorfin, ARC'de KNDy ağı içinde inhibitör bir etki sağlayarak kisspeptin ve NKB'nin uyarıcı etkilerini dengeler. Dinorfinin, insanlarda adet döngüsü ve kemirgenlerde östrus döngüsünün düzenlenmesinde kritik bir rolü vardır. Dinorfin ekspresyonu, seks steroid seviyelerindeki değişikliklere yanıt olarak düzenlenir, üreme döngüsünün zamanlamasını ve sürdürülmesini sağlar (Navarro ve ark., 2009). Örneğin, luteal faz sırasında, yükselen progesteron seviyeleri, hipotalamusta dinorfin ifadesini artırır, bu da kisspeptin salınımını engeller ve GnRH salınımını baskılar. GnRH salgılanmasının baskılanması, erken ovulasyonu önler ve LH pikinin doğru zamanda gerçekleşmesini sağlar (Roa ve ark., 2009)

2.3.2.2.6. Dinorfin ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Progesteron, hipotalamusta dinorfin ekspresyonunun güçlü bir uyarıcısıdır. Adet veya östrus döngüsünün luteal fazı sırasında, yükselen progesteron seviyeleri KNDy nöronlarında dinorfin ekspresyonunu artırır, bu da GnRH salgılanmasını engeller ve LH salınımını baskılar (Goodman ve ark., 2007; Roa ve ark., 2009). Östrojen, özellikle progesteron varlığında dinorfin ekspresyonunu artırabilir. Progesteronun hipotalamustaki dinorfin ekspresyonu üzerindeki etkilerini artırarak HPG ekseninin negatif feedback düzenlemesine katkı sağlar (Smith, Popa, Clifton, Hoffman, & Steiner, 2006b).

IL-1β ve TNF-α gibi pro-inflamatuar sitokinler, omurilik ve beyinde dinorfin ekspresyonunu artırabilir, böylece ağrı duyarlılığına ve nöroinflamasyona sebep olabilir (Wang ve ark., 2010).

2.3.2.2.7. Dinorfin ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Adet veya östrus döngüsünün foliküler fazı sırasında, düşük progesteron seviyeleri hipotalamusta dinorfin ekspresyonunun azalmasına sebep olur ve bu da

GnRH ve LH salgılanmasının artmasını sağlar (Goodman ve ark., 2007).

2.3.2.2.8. Dinorfin ve POY

KOR, steroidogenezi ve foliküler gelişimi düzenleyebilir. Ovaryumlarda dinorfin/KOR sinyallemesinin düzensizliği, bozulmuş foliküler gelişime yol açarak POY'ye katkıda bulunabilir. Aryrıca dinorfin/KOR sinyallemesinin düzensizliği ovaryumda oksidatif stresi ve inflamasyonu şiddetlendirebilir, bu da erken foliküler yetmezliğe yol açabilir (Agarwal, Gupta & Sharma, 2005).

2.3.2.3. RF-amid ilişkili peptid (RFRP)

2.3.2.3.1. RFRP'nin tanımı ve tarihçesi

RFRP, C-terminalindeki korunmuş bir Arg-Phe-NH_2 (RF- amid) motifiyle karakterize olan RF- amid peptit ailesine ait bir nöropeptittir. RFRP, ilk olarak Japon bıldırcınlarında (*Coturnix japonica*), kültürlenmiş hipofiz hücrelerinden izole edilmiştir ve gonadotropin salgılanmasını baskılama yeteneği nedeniyle, gonadotropin inhibitör hormonu (GnIH) olarak tanımlanmıştır (Tsutsui ve ark., 2000). Daha sonraki çalışmalar, kuş GnIH ile yapısal ve işlevsel benzerlikler gösteren memeli ortoloğu RFRP'yi tanımlamıştır (Kriegsfeld ve ark., 2010).

RFRP/GnIH, GnRH salınımını düzenlemek için kisspeptin ile birlikte hareket ederek üreme üzerinde önemli bir inhibitör düzenleyici olarak kabul edilmektedir (Smith ve ark., 2008).

2.3.2.3.2. RFRP'nin moleküler yapısı

RFRP geni; insanlarda NPVF, kemirgenlerde RFRP olarak adlandırılır (Ubuka ve ark., 2009). Promotor bölgesinde bulunan steroid hormon reseptörleri (ERα, AR), östrojen/androjen düzenlemesine aracılık eder (Molnár, Kalló, Liposits, & Hrabovszky, 2011).

RFRP preprohormonu yaklaşık 150–200 amino asitten oluşur ve biyoaktif peptitler üretmek için parçalanır. N terminalindeki 20–30 aminoasitlik hidrofobik kalıntı, sinyal peptidini oluşturur. C terminalindeki korunmuş LPXRF-amid motifi ise, reseptör bağlanması için kritiktir ve C-terminalindeki amidasyon, biyoaktif hale

gelmesi için gereklidir (Hinuma ve ark., 2000; Ukena, Iwakoshi, Minakata, & Tsutsui, 2002).

RFRP; memelilerde, RFRP-1 ve RFRP-3 gibi biyoaktif peptitlere parçalanır. RFRP-3, memelilerde baskın olan izoformdur (Kriegsfeld ve ark., 2010).

2.3.2.3.3. RFRP reseptörleri ve sinyal yolakları

RFRP, GnRH nöronları üzerinde, G proteinine bağlı reseptör yoluyla etki eder (Tsutsui ve ark. 2010).

RFRP'nin birincil reseptörüdür ve GPR147 geni (NPFF1R) tarafından kodlanır. İnsanlarda kromozom 10q11.21'de bulunur (Bonini ve ark., 2000). Hipotalamusta (DMN), hipofizde ve periferik dokularda (testisler, ovaryumlar, adrenal bezler) ifade edilir (Tsutsui ve ark. 2010). RFRP-3'e karşı yüksek afiniteye (Yoshida ve ark., 2003), RFRP-1'e karşı daha düşük afiniteye sahiptir (Gospodarska, Kozak, & Jaroslawska, 2019).

RFRP, birincil reseptörü GPR147'ye bağlandıktan sonra, cAMP/PKA'nın inhibisyonunu, iyon kanallarının modülasyonunu ve MAPK/ERK yolaklarının düzenlenmesini içeren bir hücre içi sinyal kaskadı başlatır.

GPR147'nin RFRP-3 tarafından aktivasyonu, doğrudan AC'yi inhibe eden Gαi/o alt biriminin ayrışmasını tetikler ve bu da hücre içi cAMP seviyelerinde bir azalmaya ve ardından PKA aktivitesinin baskılanmasına yol açar (Son, Ubuka, & Tsutsui, 2019). cAMP/PKA yolunun down regüle olması, RFRP'nin inhibitör etkileri için kritik öneme sahiptir, çünkü hipotalamustaki GnRH nöronlarının uyarılabilirliğini azaltır ve hipofizde LH ve FSH sentezini azaltır (Clarke ve ark., 2012). Aynı zamanda, G protein kompleksinin Gβγ alt birimleri, GIRK kanallarıyla etkileşime girerek membran hiperpolarizasyonuna neden olur ve GnRH nöronlarının aktivasyonunu azaltır. İyon kanalları üzerindeki bu birleşik eylemler, GnRH salınımının güçlü bir şekilde baskılanmasını sağlayarak, RFRP'nin üreme ekseninde baskılayıcı olarak rol oynamasını sağlar (Ducret ve ark., 2009).

Gαi/o sinyallemesinin dışında, RFRP, β-arrestin bağımlı mekanizmalar aracılığıyla MAPK/ERK yolunu aktive edebilir (Son ve ark., 2019). GnRH nöronlarında, ERK sinyallemesi GnRH ve gonadotropin alt birim genlerinin (örn. Lhb,

Fshb) transkripsiyonel baskılanmasına sebep olur, böylece testosteron ve estradiol üretimini azaltır (Clarke, Qi, Puspita Sari, & Smith, 2009; Molnár ve ark., 2011).

RFRP sinyallemesi, nöroendokrin sistemlerle çapraz iletişim yoluyla daha da hassas bir şekilde ayarlanır. Özellikle, RFRP, GnRH nöronlarında Kiss1R (GPR54) sinyallemesini doğrudan inhibe ederek kisspeptinin uyarıcı etkilerini antagonize eder (Pampillo ve ark., 2009). RFRP ve kisspeptin arasındaki bu dinamik denge, üreme fonksiyonunun hassas bir şekilde kontrol edilmesini sağlar.

GPR74 (NPFF2R), RFRP'nin ikincil reseptördür ve düşük afiniteye sahiptir (Bonini ve ark., 2000).

2.3.2.3.4. RFRP'nin fonksiyonları

RFRP, üreme kontrolü, stres tepkisi, metabolik düzenleme ve davranışsal modülasyon gibi çeşitli işlevlere sahiptir ve nöroendokrin düzenleyici olarak görev yapar (Singh, Anjum, Srivastava, Tsutsui, & Krishna, 2022).

RFRP, HPG ekseninde, pleotropik etkileriyle üreme fizyolojisinin inhibitör düzenleyicisi olarak görev yapar (Şekil 23). Hipotalamik düzeyde, RFRP nöronları, GnRH nöronlarıyla doğrudan sinaptik temaslar oluşturur ve burada RFRP-3'ün GPR147 reseptörlerine bağlanması, GnRH pulsatilitesini azaltır (Clarke ve ark., 2012; Ducret ve ark., 2009). RFRP aynı zamanda, hipofiz seviyesinde, gonadotropların GnRH'ye olan tepkisini azaltmak için cAMP/PKA sinyallemesini down regüle eder. Böylece hem GnRH reseptörlerinin, hem de gonadotropin alt birim genlerinin (Lhb, Fshb) ifadesini azaltarak etki eder ve LH/FSH salgılanmasında engelleyici bir fren görevi görür (Son ve ark., 2019; Ubuka, Son, Tobari, & Tsutsui, 2012).

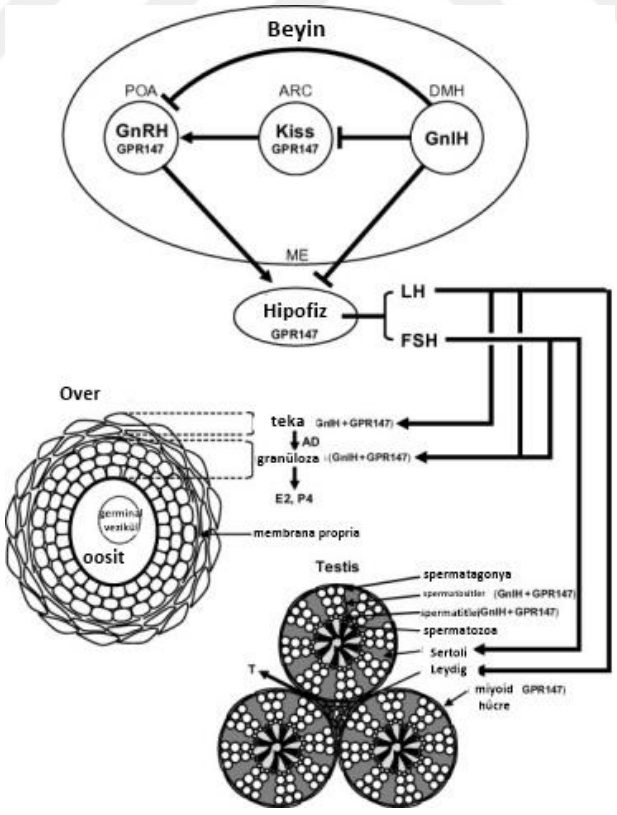
RFRP, testis Leydig hücreleri ve ovaryum granüloza hücreleri üzerindeki doğrudan etkileriyle gonadal steroidogenezi de düzenler. Erkeklerde testosteron üretimini baskılarken, kadınlarda aromataz aracılı E_2 sentezini azaltır (Zhao ve ark., 2010; Molnár ve ark., 2011). Bu gonadal feedback döngüsü hormonal olarak düzenlenir; östrojen kadınlarda RFRP ekspresyonunu artırırken, testosteron erkeklerde RFRP nöronal aktivitesini artırır ve negatif feedback oluşturur (Clarke ve ark., 2009; Poling, Kim, Dhamija, & Kauffman, 2014).

RFRP, akut stresörler aracılığıyla RFRP nöronlarını aktive eder ve HPG ile HPA eksenleri arasında işlevsel bir bağlantı oluşturarak stres kaynaklı üreme baskılanmasına aracılık eder (Kirby, Geraghty, Ubuka, Bentley, & Kaufer, 2009).

Metabolik olarak, RFRP nöronları enerji durumuyla üreme işlevi arasında bağlantı sağlayan besin sensörleri olarak görev yapar. Uzun süreli açlık, düşük leptin seviyeleri ve ghrelin sinyallemesi, RFRP nöronal aktivasyonunu tetikler ve enerji yetersizliği durumunda üreme fonksiyonu baskılanır (Manfredi-Lozano, Roa, & Tena-Sempere, 2018; True, Verma, Grove, & Smith, 2013).

Davranışsal olarak, RFRP dişi kuşlarda cinsel alıcılığı azaltır ve maternal davranışları azaltır, bu da omurgalı taksonlar arasında üreme inhibisyonunun evrimsel olarak korunduğunu düşündürmektedir (Bentley, Jensen, Kaur, Wacker, Tsutsui & Wingfield, 2006; Gotlieb ve ark., 2022).

Bu çok işlevli profil, RFRP'yi, üreme fizyolojisini ve davranışını düzenlemek için çevresel, metabolik ve hormonal sinyallerin kritik bir bağlantı noktası olarak konumlandırır.



Şekil 23. RFRP (GnIH)'nin HPG ekseni üzerindeki etkisi (Ubuka, Son, & Tsutsui, 2016)

2.3.2.3.5. RFRP ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Pineal melatonin, dorsomedial hipotalamusta (DMH) bulunan RFRP nöronlarındaki melatonin 1 (MT1) reseptörlerine bağlanarak RFRP ekspresyonunu artırır. Böylece mevsimsel üreme döngülerini düzenler (Simonneaux, & Ancel., 2012).

ERα, östrojene bağlı RFRP transkripsiyonunu artırır ve negatif feedback mekanizmasında rol oynar. Overektomi uygulanan farelerde, RFRP mRNA seviyeleri önemli ölçüde down regüle olmuştur. Bu da östrojenin RFRP aktivasyonunu sağlayarak negatif feedback mekanizmasına katkıda bulunduğunu göstermektedir (Molnár ve ark., 2011).

Androjen reseptörü (AR) aktivasyonu, androjen tepki elemanları (ARE' ler) aracılığıyla RFRP'yi up regüle eder ve negatif feedback mekanizmasında rol oynar (Clarke ve ark, 2009).

Ghrelin/ büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHSR) sinyali RFRP nöronlarını aktive eder ve açlık durumunda üremenin baskılanmasına sebep olur (True ve ark., 2013; Celik ve ark., 2016).

2.3.2.3.6. RFRP ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Kiss1R aktivasyonu, GIRK kanallarının PKC aracılı baskılanması yoluyla RFRP nöronlarının aktivasyonunu baskılar ve üreme davranışını artırır (Smith ve ark., 2008).

Leptin/LepRb sinyalizasyonu, JAK2-STAT3 yoluyla RFRP nöronlarını hiperpolarize eder ve RFRP aktivasyonunu baskılayarak tokluk durumunda üreme fonksiyonunun aktivasyonunu sağlar (Manfredi-Lozano ve ark., 2018).

Progesteron seviyeleri, RFRP-3 seviyeleri ile negatif korelasyon gösterir. Progesteron, RFRP aracılığıyla GnRH salınımını düzenleyerek LH ve FSH seviyelerinde değişikliklere neden olur (Mohapatra ve ark.2024).

2.3.2.3.7. RFRP ve POY

Aşırı RFRP aktivitesi, GnRH nöronlarını baskılayarak bazı POY vakalarının bir özelliği olan hipogonadotropik hipogonadizme yol açabilir.

Çalışmalar, farelerde RFRP'nin aşırı ekspresyonunun, LH pulsatilitesini azalttığını ve POY varyantlarında görülen düşük LH/FSH'yi taklit ettiğini göstermektedir (Clarke ve ark., 2012). Ayrıca yüksek RFRP seviyelerinin; antral

evrede folikül gelişiminin durmasına sebep olarak POY'ye katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Wilsterman, Bentley, & Comizzoli, 2019).

2.3.2.4. GABA

2.3.2.4.1. GABA'nın tanımı ve tarihçesi

GABA, MSS'de, başlıca inhibitör nörotransmitter olarak görev yapan dört karbonlu, proteinojenik olmayan bir aminoasittir. Bilinen aminoasitlerin aksine, GABA öncelikle bir nöromodülatör olarak işlev görür ve klorür (Cl^-) akışı yoluyla postsinaptik membranları hiperpolarize ederek nöronal uyarılabilirliği düzenler. Kimyasal olarak, GABA ($C_4H_9NO_2$), glutamat dekarboksilaz (GAD) enzimi tarafından dekarboksilasyon yoluyla türetildiği uyarıcı nörotransmitter glutamata yapısal olarak benzerdir (Roberts, & Frankel, 1950).

İlk olarak 1950'de, Eugene Roberts ve Sam Frankel, aminoasit dağılımını incelerken sığır beyin dokusundan GABA'yı izole ettiler. MSS'deki yüksek konsantrasyonunu ve diğer dokularda yokluğunu fark ettiler ve bu da özel bir nöral rolü olduğunu düşündürdü (Roberts, & Frankel, 1950).

GABA'nın bilinen nörotransmitterlerin (örn. asetilkolin) aksine hızlı kas kasılmalarına neden olmaması, nörotransmitter olmasıyla ilgili şüpheler ortaya çıkardı. Ancak Florey ve meslektaşlarının çalışmaları, GABA' nın kerevit reseptörleri üzerindeki inhibe edici etkilerini göstererek, nörotransmisyon rolüne dair ilk işlevsel kanıtı sağladı (Florey E. & Florey E., 1955). Kuffler ve Edwards daha sonra GABA'nın nöronlardaki inhibe edici etkisini doğruladı ve bunu sinaptik inhibisyona bağladı (Kuffler, & Edwards, 1958).

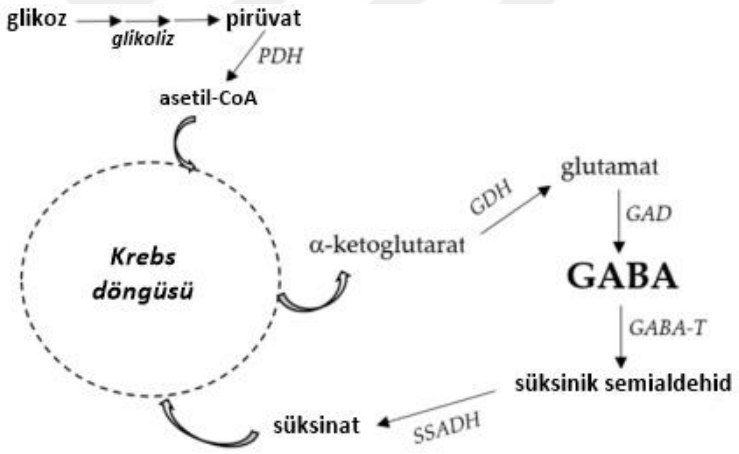
Krebs döngüsünü atlayan metabolik bir yol olan GABA yolağı, 1960'larda keşfedildi. Bu yol, glutamatı GAD aracılığıyla GABA'ya dönüştürür ve GABA transaminaz (GABA-T) aracılığıyla GABA'yı süksinata parçalar (Baxter, 1970).

GABA, günümüzde yalnızca bir MSS nörotransmitteri olarak değil, aynı zamanda üreme de dahil olmak üzere nöroendokrin fonksiyonların bir düzenleyicisi olarak da tanımlanmaktadır. Keşfi, inhibitör nörotransmisyonu ve terapötik uygulamalarını anlamanın yolunu açmıştır (Watanabe, Maemura, Kanbara, Tamayama, & Hayasaki, 2002).

2.3.2.4.2. GABA'nın moleküler yapısı

GABA, kimyasal formülü $C_4H_9NO_2$ ve moleküler ağırlığı 103,12 g/mol olan dört karbonlu, protein oluşturmayan bir amino asittir. Bir ucunda bir karboksil grubu (–COOH), γ (gamma) pozisyonunda bir amino grubu ($–NH_2$) bulunur. Polar yapısı nedeniyle suda oldukça çözünürdür (Petroff, 2002).

GABA, esas olarak nöronlarda, Krebs döngüsünün iki adımını atlayan bir metabolik yol olan GABA şantı yoluyla sentezlenir (Şekil 24). İki izoformda (GAD65, GAD6) bulunan GAD tarafından katalize edilir (Erlander, Tillakaratne, Feldblum, Patel, & Tobin, 1991). Kofaktör olarak piridoksal fosfat (PLP) ve B6 vitamini gerektirir (Dakshinamurti ve ark., 1990). Glutamat, GAD yoluyla GABA'ya dönüşür. GABA ise GABA-T yoluyla süksinik semialdehit dönüşüp, süksinat olarak Krebs döngüsüne yeniden girer (Baxter, 1970).



Şekil 24. Krebs döngüsünden GABA üretimi (Iorizzo, Paventi, & Di Martino, 2023)

2.3.2.4.3. GABA reseptörleri ve sinyal yolakları

GABA, inhibitör etkilerini iki ana reseptör sınıfı aracılığıyla iletir: iyonotropik $GABA_A$ reseptörleri ve metabotropik $GABA_B$ reseptörleri (Şekil 25). Bu reseptörler, yapıları, işlevleri ve sinyal mekanizmaları bakımından farklılık gösterir ve nöronal aktivitenin hassas bir şekilde modüle edilmesine olanak tanır. GABAerjik nöronlar, hipotalamus dahil olmak üzere beynin birçok bölgesinde bulunur (Chen, & Sharma, 2025).

$GABA_A$ reseptörleri (ligand kapılı Cl^- kanalları), MSS'de hızlı sinaptik inhibisyonu ileten, pentamerik, ligand kapılı Cl^- kanallarıdır (Olsen, & Sieghart,

2008). Sinaptik ve ekstrasinaptik alt tipler farklı alt birim bileşimleri sergiler ve bu da farmakolojik ve kinetik özelliklerini etkiler. GABA'nın α ve β alt birimlerine bağlanmasıyla birlikte, reseptör konformasyonel bir değişime uğrar ve Cl^- kanalını açar. Cl^- akışı, nöronu hiperpolarize ederek uyarılabilirliğini azaltır.

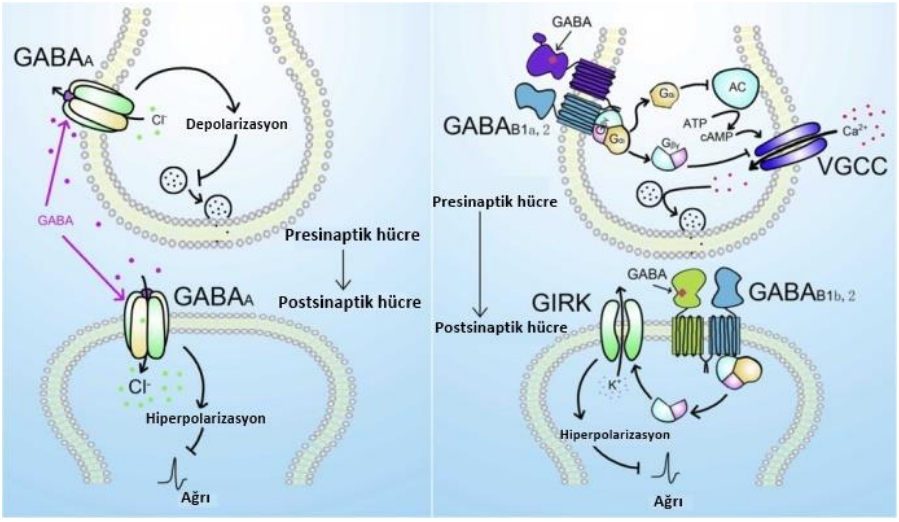
Sinaptik $GABA_A$ reseptörleri (γ içeren), fazik inhibisyonu sağlar ve hızlı, geçici inhibitör postsinaptik akımlar (IPSC'ler) üretir. Ekstrasinaptik $GABA_A$ reseptörleri (δ içeren), tonik inhibisyon üretir ve kalıcı bir inhibitör tonu korunur (Olsen, & Sieghart, 2008).

Puberte öncesi gelişimde, $GABA_A$ reseptör aktivasyonu, GnRH salgılanmasını inhibe ederek üremeyi baskılar (Clarkson & Herbison, 2006a). Yetişkinlikte, östrojen GABA' nın etkisini depolarize edici $GABA_A$ reseptör yanıtları yoluyla inhibe ediciden uyarıcıya kaydırır ve GnRH salınımını sağlar (Herbison, & Moenter, 2011).

$GABA_B$ reseptörleri (G protein bağlantılı reseptörler), işlevsel ifadesi için gerekli olan $GABA_{B1}$ ve $GABA_{B2}$ alt birimlerinden oluşan heterodimerik GPCR'lerdir. Bu reseptörler, G_i/o protein sinyalizasyonu yoluyla yavaş ve uzun süreli inhibisyona aracılık eder. GABA'nın $GABA_{B1}$'e bağlanması, G_i/o proteinlerini aktive eder ve bunlar, AC'yi inhibe ederek cAMP üretimini azaltır. GIRK kanallarını aktive ederek membran hiperpolarizasyonuna yol açar. Voltaj kapılı Ca^{2+} kanallarını inhibe ederek nörotransmitter salınımını baskılar.

$GABA_B$ reseptörleri hem presinaptik (nörotransmitter salınımını inhibe eden) hem de postsinaptik (nöronları hiperpolarize eden) olarak bulunur (Bettler, Kaupmann, Mosbacher & Gassmann, 2004).

Kisspeptin nöronlarındaki $GABA_B$ reseptörleri, GnRH salınımını düzenler ve ovaryum ve testislerde, steroidogenezi ve germ hücresi olgunlaşmasını etkiler (Di Giorgio, Bizzozzero-Hiriart, Libertun, & Lux-Lantos, 2019; Geigerseder ve ark., 2003).



Şekil 25. GABA reseptörlerinin sinyal yolakları (Qian ve ark., 2023)

2.3.2.4.4. GABA'nın fonksiyonları

GABA, MSS'de birincil inhibitör nörotransmitter olarak görev yapar ve hem nöronal hem de nöronal olmayan dokularda çeşitli düzenleyici roller oynar.

GABA'nın en iyi tanımlanmış rolü, MSS'de hızlı sinaptik inhibisyona aracılık etmektir. GABA, $GABA_A$ reseptörlerine bağlanarak, Cl^- akışını tetikler, nöronları hiperpolarize eder ve aşırı uyarımı önler (Olsen, & Sieghart, 2009). Bu işlev; uyarıcı-inhibitör dengesini korumak ve biliş için gerekli olan ritmik beyin aktivitesini şekillendirmek için kritik öneme sahiptir (Sohal, Zhang, Yizhar, & Deisseroth, 2009).

GABA, HPA eksenini düzenleyerek CRH nöronlarını inhibe eder ve stres tepkisini düzenler (Cullinan, Ziegler, & Herman, 2008). Üremenin düzenlenmesinde, GABA GnRH salgılanmasını düzenler (Terasawa, & Fernandez, 2001). Ayrıca ARC'deki GABAerjik AgRP nöronları beslenmeyi uyarır ve iştah ve metabolizmanın düzenlenmesinde rol oynar (Wu, Boyle, & Palmiter, 2009).

Davranışsal olarak, GABA, anksiyete ve ruh halinin düzenlenmesinde rol oynar (Nutt, & Malizia, 2001). Hipokampal GABAerjik internöronlar, bilgi akışını sağlayarak öğrenme ve hafızada rol oynar (Palpagama ve ark., 2019).

2.3.2.4.5. GABA ve HPG ekseni

GABA, GnRH nöronlarıyla etkileşimleri yoluyla HPG ekseninin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. MSS'deki birincil inhibitör nörotransmitter olan GABA, gelişimsel olarak değişen ve steroid hormonlar tarafından modüle edilen

üreme fonksiyonu üzerinde hem doğrudan hem de dolaylı etkilere sahiptir (Herbison, 2016).

Erken gelişim sırasında GABA, yüksek hücre içi Cl^- konsantrasyonları nedeniyle, GnRH nöronlarında uyarıcı bir nörotransmitter olarak hareket ederek nöronal büyümeyi ve ağ oluşumunu teşvik eder (Ben-Ari, Gaiarsa, Tyzio & Khazipov, 2007). Ancak, potasyum klorür kotransporteri (KCC2) olgunlaşma sırasında ifade edildiğinde, GABA'nın etkisi inhibitöre dönüşür; bu geçiş ergenliğin doğru zamanlaması için çok önemlidir (Watanabe, Fukuda, & Nabekura, 2014). Yetişkinlikte, östrojen GnRH nöronlarındaki bu polariteyi tersine çevirebilir ve GABA'nın tekrar uyarıcı hale gelmesini ve ovulasyon öncesi GnRH dalgalanmasını üremeye katılmasını sağlayabilir (DeFazio, Heger, Ojeda, & Moenter, 2002).

Hipotalamik ARC, GnRH nöronlarına projeksiyon yapan ve kisspeptin gibi nöropeptitleri birlikte ifade eden bir GABAerjik nöron popülasyonu içerir ve üreme işlevi için karmaşık bir düzenleyici ağ oluşturur (Lehman, Merkley, Coolen, & Goodman, 2010b). GABAerjik sinyalleme, hem $GABA_A$ reseptörleri aracılığıyla hızlı, iyonotropik etkileri; hem de $GABA_B$ reseptörleri aracılığıyla daha yavaş, metabotropik etkileri iletir.

Ligand kapılı Cl^- kanalları olan $GABA_A$ reseptörleri, hipotalamustaki hızlı sinaptik inhibisyonun çoğunu düzenler ve adet döngüsü sırasında dalgalanan nörosteroidler tarafından düzenlenir (Maguire, & Mody, 2008). Buna karşılık, $GABA_B$ reseptörleri, AC'yi inhibe eden ve potasyum kanallarını düzenleyen G proteinine bağlı reseptörlerdir ve GnRH salgılanmasının uzun süreli inhibisyonu için bir mekanizma sağlar (Bettler ve ark., 2004). Bu ikili reseptör sistemi, normal üreme işlevi için gerekli olan pulsatil salınımın hassas zamansal kontrolüne olanak tanır (Watanabe ve ark., 2014).

2.3.2.4.6. GABA ekspresyonunu artıran faktörler ve moleküller

Glutamat, GAD aktivasyonu yoluyla, GABA sentezi için birincil öncüdür ve GABA seviyesini artırır (Petroff, 2002).

Östradiol, hipotalamusta aksiyon potansiyelinden bağımsız olarak GABA salınımını artırır (Romanò, Lee, Jasoni, & Herbison, 2008). Kisspeptin, GABA'nın GnRH nöronlarına salınımını uyarır (Di Giorgi ve ark., 2019).

2.3.2.4.7. GABA ekspresyonunu azaltan faktörler ve moleküller

Kronik stres (yüksek kortizol), GAD65/67' yi down regüle eder ve GABA seviyesini azaltır (Maguire, & Mody, 2008).

2.3.2.4.8. GABA ve POY

POY hastaları, gonadotropin salgısını baskılayan, GnRH nöronlarının yüksek GABAerjik inhibisyonunu sergiler (Berga ve ark., 2021).

Kronik stres (yüksek kortizol), POY'yi taklit ederek hipotalamik GABA'yı artırır (Maguire, & Mody, 2008). Yüksek GABA seviyeleri, GnRH salınımını engelleyerek hormonal düzensizliğe sebep olur ve HPG eksenindeki bu disregülasyon, foliküllerin atrezisine sebep olarak over yetmezliğine sebep olabilir.

2.4. Prematür Over Yetmezliği

POY, 40 yaşından önce over fonksiyonunun kaybıyla karakterize bir durumdur. Amenore, hipoöstrojenizm ve infertiliteye yol açar (Nelson, 2009). POY, 40 yaşından genç kadınların yaklaşık %1'ini etkiler ve üreme sağlığı için önemli etkileri vardır (European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, 2016).

Bu durumun etiyolojisi çok faktörlü olup çeşitli başlıklar altında sınıflandırılabilir. Genetik nedenler arasında Turner sendromu, Fragile X premutasyonu ve BRCA gen mutasyonları yer alırken; otoimmün nedenler sıklıkla adrenal veya tiroid hastalıklarıyla ilişkili otoimmün ooforit şeklinde ortaya çıkar. İatrojenik faktörler arasında ise kemoterapi, radyoterapi ve over cerrahisi gibi tıbbi müdahaleler bulunur. Ayrıca çevresel toksinlere maruz kalma, sigara kullanımı ve galaktozemi gibi metabolik hastalıklar da POY gelişiminde rol oynayabilmektedir (Luisi ve ark., 2015).

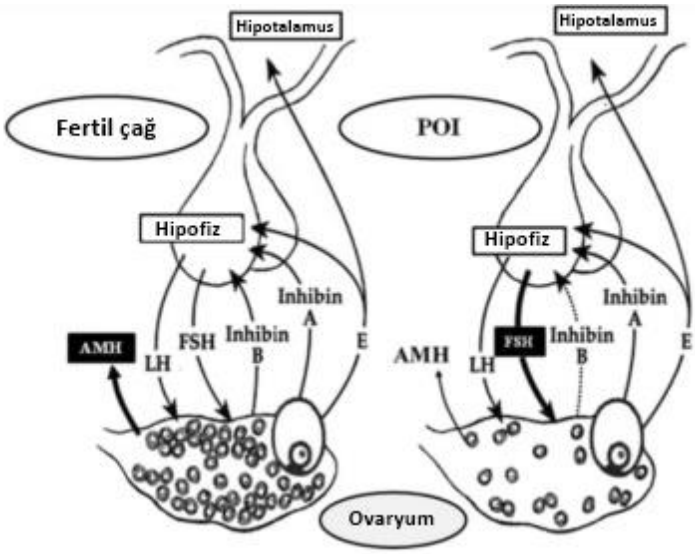
2.4.1. POY ve infertilite

İnfertilite, 1 yıl düzenli ve korunmasız cinsel ilişki sonucunda gebelik elde edilememesi durumudur. POY ise ovaryumdaki foliküllerinin tükenmesi sebebiyle önemli bir infertilite sebebidir (Jankowska, 2017). Menopozdan farklı olarak POY, bazı kadınlarda sporadik ovulasyon ile aralıklı ovaryum fonksiyonunu içerebilir. Ancak spontan gebelik oranları düşüktür (~%5-10) (van Kasteren, &

Schoemaker,1999).

2.4.2. POY'de HPG ekseni

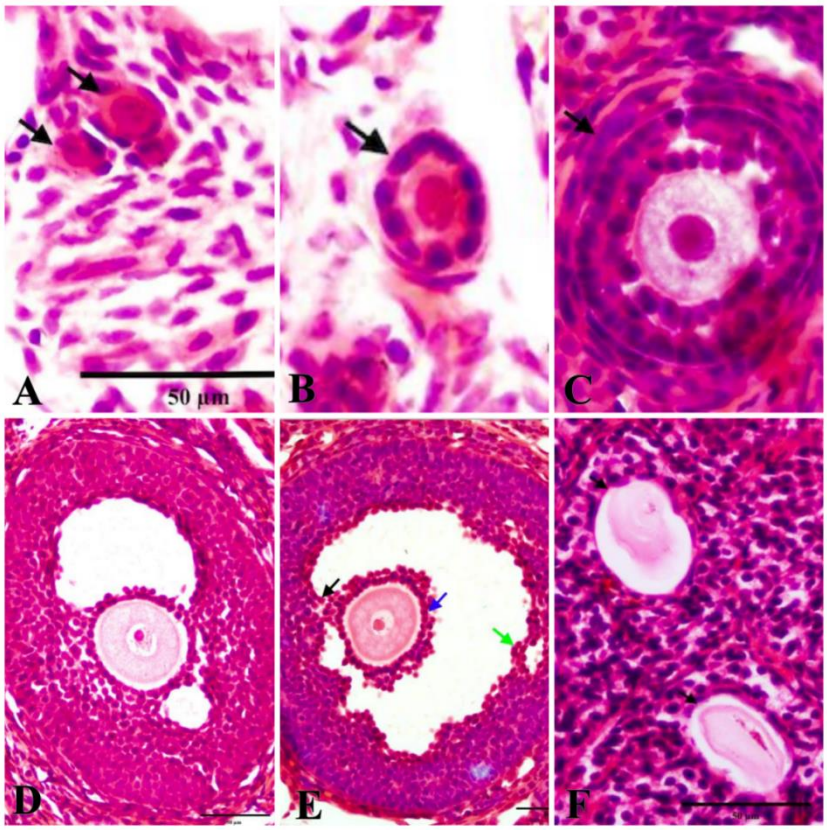
HPG ekseni üreme fonksiyonunu düzenler (Plant ve ark., 2015a). POY'de, ovaryum foliküllerinin kaybı, östrojen ve inhibin azalmasına ve negatif feedback mekanizmasının bozulmasına (Şekil 26) sebep olur (Santoro, 2003). POY hastalarında yüksek FSH (>25 IU/L) seviyeleri ve düşük AMH seviyeleri (<1 ng/mL) over yetmezliğini doğrular. Bazı kadınlarda, dalgalanan hormon seviyeleri olabilir ve bu da tanıyı zorlaştırır (Jiao ve ark., 2021).



Şekil 26. POY'de endokrin yollar (Luisi ve ark., 2015)

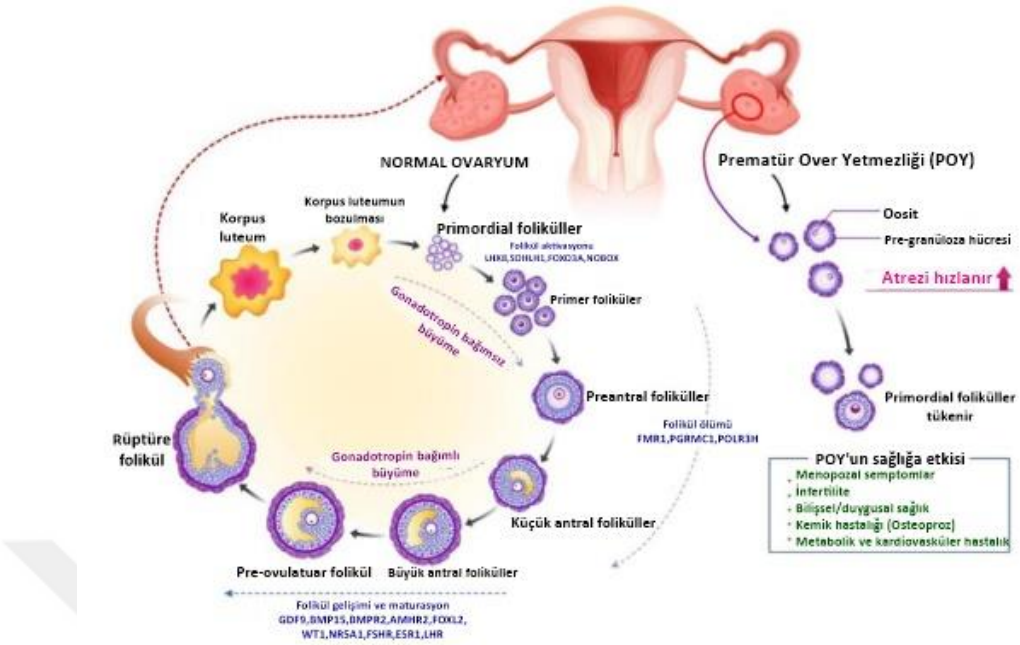
2.4.3. POY'de ovaryum histolojisi

Normal ovaryum histolojisinde (Şekil 27); ovaryum, dinlenme durumundaki primordial foliküller (yassı granüloza hücreleriyle çevrili oositler) içerir. Büyüyen foliküller primer (kübik granüloza tabakası) ve sekonder foliküllere dönüşür. Olgunlaşma tamamlandığında, sekonder oosit perifere doğru çekilir ve granülaza tabakası içerisinde antrum boşluğu oluşur. Bu foliküle antral folikül denir ve ovulasyon için hazır oositi bulundurur. Ovaryumun medullası ise, vaskülarize stroma ve hilus hücrelerinden oluşur (Ross, & Pawlina, 2019).



Şekil 27. Ovaryum histolojik kesitleri ve folikül tipleri. (A) Primordial foliküller, tek katlı yassı hücre tabakasıyla çevrili bir primer oosit içerir (B) Unilaminar primer foliküller, tek katlı kübik epitel ile çevrili bir primer oosit içerir. (C) Multilaminar primer foliküller, çok katlı kübik granüloza hücreleriyle çevrili primer oositten oluşur, zona pellicuda kalınlaşır. (D) Sekonder (antral) foliküllerde, kübik granüloza hücreleri 6-12 kat haline gelir ve antrum boşluğu likör sıvısıyla dolmaya başlar. Teka interna ve teka eksterna oluşur. (E) Graaf (matür) folikülde, antrum genişleyerek tek bir boşluk haline gelir ve oosit perifere çekilir.Oositin çevresini kumulus ooforus (siyah ok) ve korona radiata (mavi ok) hücreleri sarar. (F) Atretik foliküller, folikülogenez sürecinde atreziye uğrayan foliküllerdir. Kalıntıları makrofajlar tarafından temizlenir. (Cakir ve ark., 2024)

POY ovaryumlarında, primordial foliküller neredeyse tamamen kaybolur (sağlıklı ovaryumlarda 10.000–25.000'e kıyasla <1.000). Kalan foliküller sıklıkla atretik değişiklikler (piknotik çekirdekler, granüloza hücre ayrılması) (Şekil 28) sergiler (Faddy, & Gosden, 1996). Kortikal fibrozis, foliküler yapıların yerini alır (Gu, Wang, & Yu, 2024).



Şekil 28. Normal ovaryum ve POY'de folikülogenez ve ovulasyon (Chon, Umair, & Yoon, 2021)

2.5. POY Hayvan Modelleri

2.5.1. Siklofosfamid (CTX) modeli

CTX, granüloza hücrelerinde ve oositlerde DNA çapraz bağlanmasına neden olan ve p53 aracılı apoptozu tetikleyen alkilleyici bir ajandır. CTX (100 mg/kg) tek doz intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonuyla uygulanır (Zheng, Ma, Chen, & Li, 2021).

2.5.2. VCD (4-vinilsikloheksen diepoksit) modeli

PI3K/AKT sağkalım yolunu inhibe ederek seçici olarak primordial ve primer folikülleri hedef alır ve apoptozu hızlandırır. Sekonder folikülleri azaltır ve kademeli olarak foliküler tükenmeye sebep olur (Kappeler, & Hoyer, 2012). 15 gün boyunca günde 160 mg/kg s.c. olarak enjekte edilir (Frye ve ark., 2012).

2.5.3. Sisplatinle indüklenen POY modeli

Sisplatin, DNA- alkilleyici bir ajandır ve oksidatif stresi artırarak foliküllerin apoptozuna sebep olur. Granüloza hücrelerindeki DNA hasarı, folikül matürasyonunu bozar. 3-4 hafta boyunca, haftada bir kez, 5-7 mg/kg i.p. olarak uygulanır (Li ve ark., 2024).

2.5.4. D-galaktoz ile indüklenen POY modeli

Kronik D-galaktoz maruziyeti, ileri glikasyon son ürünlerini (AGE) artırarak ovaryum yaşlanmasını hızlandırır. ROS birikimi, oositlerde mitokondriyal işlev bozukluğuna ve hücresel yaşlanmaya sebep olur. 6-8 hafta boyunca, subkutan (s.c.), günlük 150-300 mg/kg D-galaktoz enjeksiyonu yapılır (Song, Bao, Li, & Li, 1999).

2.5.5. Ovaryum iskemisi-reperfüzyonu

Hipoksi, oksidatif strese ve mitokondriyal disfonksiyona neden olur. Ovaryum damarının 3 saat boyunca klemplenmesi, ardından reperfüzyonu ile uygulanır. Folikül apoptozu artar (Kırmızı ve ark., 2021).

2.6. POY'de DHEA Kullanımı

DHEA, esas olarak adrenal zona retikülaris (%90) ve ovaryumlarda (%10) sentezlenen bir steroid hormonudur. Androjenler ve östrojenlerin öncüsü olarak görev yapar (Labrie ve ark., 2005).

DHEA-Sülfat (DHEA-S), en bol bulunan formdur (kadınlarda 100–500 μg/dL), sülfonasyon nedeniyle daha uzun bir yarı ömre (10–20 saat) sahiptir (Kroboth, Salek, Pittenger, Fabian, & Frye, 1999). Serbest DHEA, biyoaktif ancak kısa yarı ömürlüdür (15–30 dakika) (Baulieu, 1996).

DHEA, 30 yaşından sonra yılda yaklaşık %2 azalır, 70 yaşına kadar ise yaklaşık %80 azalış gösterir (Laughlin, & Barrett-Connor, 2000).

DHEA, androjen reseptörlerini hedefleyerek, PI3K/AKT yolağı aracılığıyla granüloza hücrelerinde FSH duyarlılığını artırır (Sen, & Hammes, 2010). ER'leri hedefleyerek, foliküler sağkalıma destek olur (Engdahl ve ark., 2014).

Hayvan çalışmaları, özellikle sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar, DHEA'nın folikül sağkalımı ve ovaryum yaşlanmasını geciktirmedeki rolüne ilişkin bilgiler sağlamaktadır.

POY modeli oluşturulan sıçan çalışmalarında, DHEA tedavisi sonrasında primordial foliküllerde artış, FSH seviyelerinde düşüş ve AMH seviyelerinde artış görülmüş (Zhao ve ark., 2024); ayrıca DHEA, apoptotik süreci baskılayarak ve inflamatuar yanıtı modüle ederek (Cakir ve ark., 2024) ovaryum anjiyogenezini teşvik etmiş ve foliküler gelişimi ve granüloza hücre sağkalımını artırmıştır (Sozen ve ark.,

2019; Zhao ve ark., 2024).

POY'li kadınlarda yapılan klinik çalışmalar; DHEA'nın insanlarda etkinliği ve güvenliği hakkında kritik veriler sunmaktadır. Temel bulgular, DHEA kullanımı sonrası adet döngülerinin düzenlenmesi, spontan gebelik oranının artışı (Mamas L., & Mamas E., 2009), antral folikül sayısının artışı, FSH seviyelerinde düşüş (Monteiro, Scheffer, Carvalho, & Scheffer, 2019) ve iyileşmiş IVF sonuçlarıyla ilişkilidir (Gleicher ve ark., 2010; Xu, Hu, Liu, & Li, 2019; Zhang ve ark., 2020).

2.7. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, VCD ile oluşturulan POY modelinde DHEA'nın, hipotalamik uyarıcı (kisspeptin/KISS1R, galanin/GALR1, melanokortin/MC4R, leptin/Ob-R, glutamat/GluA1) ve baskılayıcı (NPY/Y1R, RFRP/GPR147, dinorfin/KOR, GABA/$GABA_A$) peptitler ve bu peptidler ile ilişkili reseptörler üzerindeki etkisini karşlaştırmak ve POY ve normal over rezervi modellerinde hipotalamik peptid profillerini belirleyerek literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmaya, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 04.03.2025 tarihli ve 2025-04/05 sayılı onayı alındıktan sonra başlanmış olup, araştırmada kullanılmak üzere 49 adet, 60 günlük ve 200-250 gram ağırlığında olan dişi Spraque Dawley sıçanlar, üniversitenin Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden (DEHYUAM) sağlandı. Sıçanlar burada, 12 saatlik aydınlık ve karanlık döngülerinde, su ile gıdaya serbest erişim sağlayacak şekilde barındırıldı ve tüm uygulamalar, DEHYUAM ile Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na bağlı laboratuvarlarda gerçekleştirildi.

3.2. Deney Grupları

Hayvanlar, her gruptaki sıçan sayısı 7 adet olacak şekilde 7 gruba (gruplar ve enjeksiyonlar Şekil 29'da gösterilmiştir) ayrıldı.

Grup 1: Kontrol grubu (n=7): Deneyin 0. (ilk) günü sakrifiye edilen sıçanlar

Grup 2: VCD grubu (n=7): 15 gün VCD enjeksiyonu sonrasında sakrifiye edilen sıçanlar

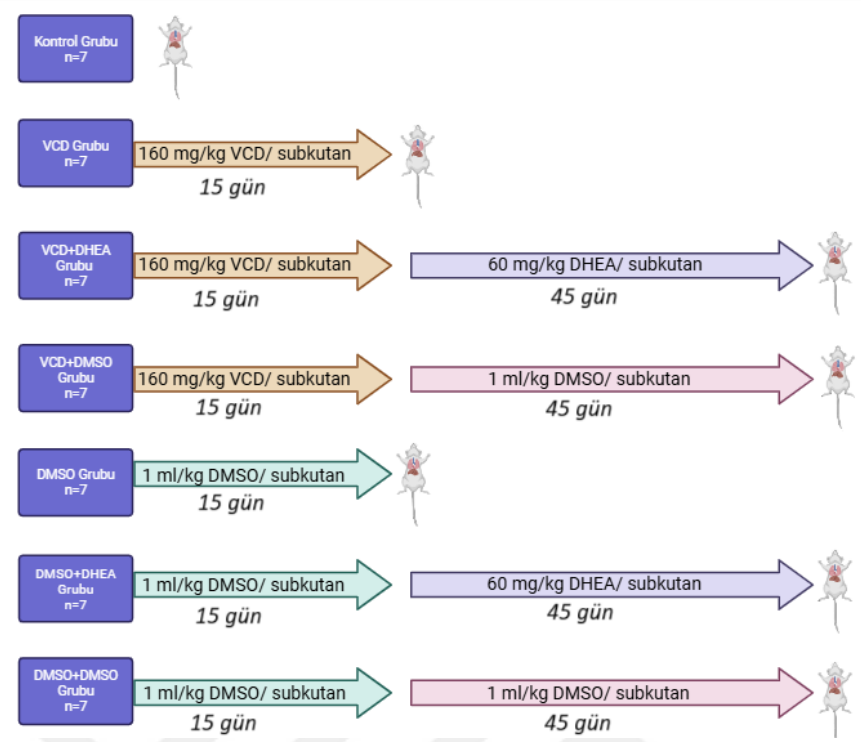
Grup 3: VCD+DHEA grubu (n=7): Sırasıyla; 15 gün VCD enjeksiyonu ve 45 gün DHEA enjeksiyonu sonrasında sakrifiye edilen sıçanlar

Grup 4: VCD+DMSO grubu (n=7): Sırasıyla; 15 gün VCD enjeksiyonu ve 45 gün DMSO enjeksiyonu sonrasında sakrifiye edilen sıçanlar

Grup 5: DMSO grubu (n=7): 15 gün DMSO enjeksiyonu sonrasında sakrifiye edilen sıçanlar

Grup 6: DMSO+DHEA grubu (n=7): Sırasıyla; 15 gün DMSO enjeksiyonu ve 45 gün DHEA enjeksiyonu sonrasında sakrifiye edilen sıçanlar

Grup 7: DMSO+DMSO grubu (n=7): 60 gün DMSO enjeksiyonu sonrasında sakrifiye edilen sıçanlar



Şekil 29. Deney grupları (BioRender ile oluşturuldu)

3.3. Kan Örneklerinin Alınması

Deneklerden kan örnekleri 1.gün ve 15.gün, sevofluran inhalasyon anestezisi uygulanarak retro-orbital bölgeden alındı. Anestezi altındaki hayvanların başı, kafatası ve çene kısmından sabitlenip, üst göz kapağı işaret parmağı ile geriye çekildi. Middorsal şekilde orbital venöz pleksusa ulaşılarak mikrokapiller tüp yardımıyla pleksus yırtıldı ve kanın tüpe akışı sağlandı. Her sıçandan yaklaşık 500 µl hacminde örnek alındı. Kan örnekleri, 4.000 rpm hızda, 4°C sıcaklıkta 10 dakika santrifüj edilerek serum fazı elde edildi. Ayrıştırılan serumlar, ELISA yöntemiyle AMH düzeylerinin ölçümüne kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.4. ELISA

Serum AMH seviyelerinin analizi için, ticari ELISA kiti (katalog no: EA0083Ra, BT LAB Rat AMH ELISA Kit, Shanghai, Çin) kullanıldı. Tüm analiz adımları, üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda uygulandı. İlk aşamada, antikorla önceden kaplanmış 96 kuyucuklu plaklara, standart çözelti serileriyle birlikte deney gruplarına ait örnekler mikropipet ile yüklendi ve 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübe edildi. Bu

sürecin ardından, plakalar PBS tamponu ile beş kez yıkanarak bağlı olmayan maddeler ortamdan uzaklaştırıldı. Her kuyucuğa HRP-konjugat etkiektli antikor eklendi ve plakalar yeniden 37 °C'de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Takip eden yıkama sonrasında, tetramethylbenzidine (TMB) substratı ilave edilerek karanlıkta 37 °C'de 20 dakika reaksiyonun ilerlemesi sağlandı. Süre sonunda, durdurucu çözelti eklenerek reaksiyon sonlandırıldı. Meydana gelen renk değişimi, 450 nm dalga boyunda çalışan mikroplaka okuyucusunda optik yoğunluk olarak ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri ile standart eğri oluşturularak, deneklerin AMH seviyeleri standart eğriye göre hesaplandı.

3.5. Kimyasal Maddelerin Uygulanması

Enjeksiyonlar, Tablo 1'de belirtildiği şekilde her gün aynı zaman aralığında yapıldı. İlaç dozlarının belirlenmesi için sıçanların vücut ağırlıkları haftalık olarak takip edildi.

Tablo 1. Uygulanan kimyasal maddelerin dozları, süreleri ve uygulama yolları (Cakir ve ark., 2024)

Etken madde	Çözücü madde	Doz	Süre	Uygulama yolu
4-Vinylcyclohexene Diepoxid (VCD) (Sigma, 94956l)	DMSO (1ml/kg)	160 mg/kg/gün (Frye ve ark., 2012)	15 gün	Subkutan
Dimetil Sülfoksit (DMSO) (VCD sham) (Sigma, 472301)	-	1 ml/kg/gün (Frye ve ark., 2012)	15 gün	Subkutan
Dihidroepiandrostenedion (DHEA) (Sigma, D4000)	DMSO (1ml/kg)	60 mg/kg/gün (Hassa, Aydin, Ozatik, Erol, & Ozatik, 2015)	45 gün	Subkutan
Dimetil Sülfoksit (DMSO) (DHEA sham) (Sigma, 472301)	-	1 ml/kg/gün (Hassa ve ark., 2015)	45 gün	Subkutan

3.6. VCD ile POY Hayvan Modeli Oluşturulması

Çalışmamızda sıçanlarda POY modeli oluşturmak amacıyla; 15 gün süreyle, günde tek doz 160 mg/kg VCD, 128,5 mg/ml DMSO içinde eritirilerek subkutan olarak enjekte edildi. Normal ovaryan rezerv (NOR) gruplarına ise VCD yerine aynı volümde DMSO s.c. olarak enjekte edildi.

3.7. DHEA'nın Etkisinin Araştırılması

VCD enjeksiyonlarının ardından, 45 gün boyunca günde tek doz 60 mg/kg DHEA, 0,1 ml DMSO içinde eritilerek, subkutan olarak enjekte edildi. NOR gruplarına ise DHEA yerine aynı volümde DMSO enjeksiyonu subkutan olarak yapıldı.

3.8. Vajinal Smear ile Östrus Siklus Evrelerinin Saptanması

Sıçanların östrus siklus evrelerinin belirlenmesi için vajinal smear örnekleri alındı. Damlalık ile alınan vajinal sürüntü, lam üzerine yayılarak metanol ile fikse edildi. Ardından örnekler, Tablo 2'de belirtilen hematoksilen-eozin (H&E) protokolüne uygun olarak boyandı.

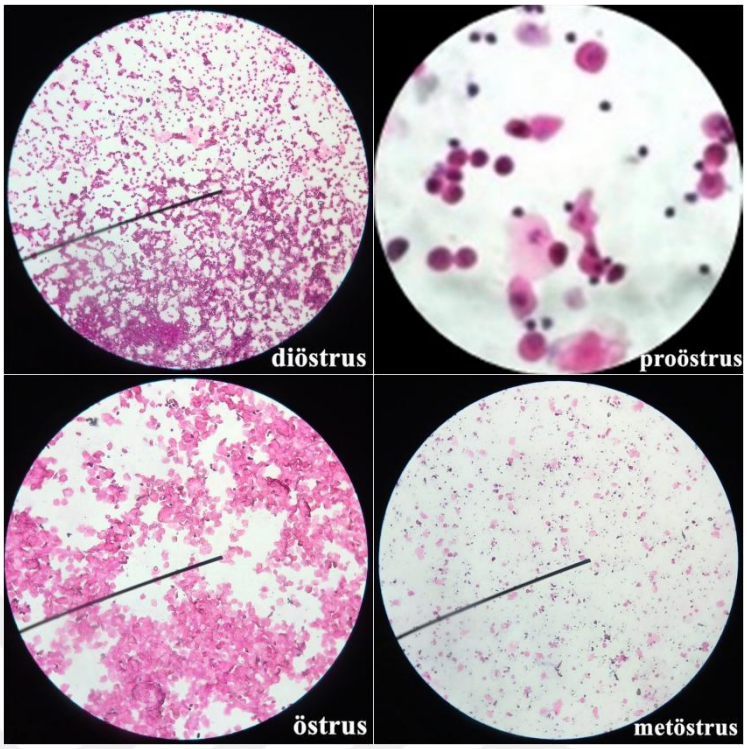
Tablo 2. Vajinal smear örneklerini H&E boyama protokolü

%70'lik alkol	10 dips
Akan musluk suyu	1 dips
Hematoksilen	5 dips
Akan musluk suyu	Mavileşinceye kadar
Eosin	5 dips
Akan musluk suyu	Su berraklaşıncaya kadar

Boyanan smear örnekleri ışık mikroskobuyla incelendi ve östrus evreleri Tablo 3'teki tanımlamalara göre ve Şekil 30'daki mikroskobik görüntülere göre belirlendi.

Tablo 3. Östrus evrelerinin saptanması

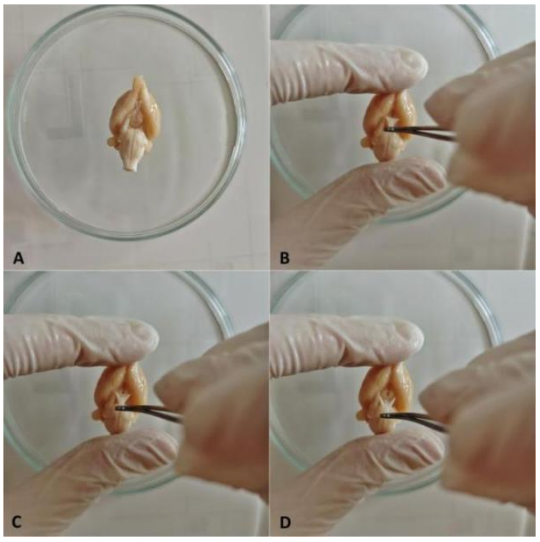
Proöstrus evresi	Nükleuslu epitel hücreleri çok sayıda görülür, lökositler görülmez.
Östrus evresi	%75 nükleuslu süperfisiyal ve %25 keratinize süperfisiyal hücreler görülür.
Metöstrus evresi	Nükleuslu ve kornifiye hücreler ve çok miktarda lökosit görülür.
Diöstrus evresi	Baskın olarak lökositler görülür.



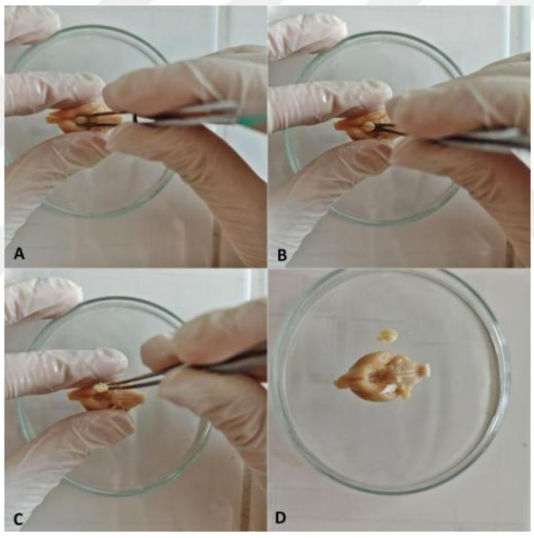
Şekil 30. Östrus evrelerinin H&E ile boyanmış mikroskobik görüntüsü (Yazarın tez çalışmasından alınmıştır.)

3.9. Deneklerin Sakrifikasyonu ve Doku Eldesi

Denekler, enjeksiyonlar tamamlandıktan sonra, vajinal smear yöntemi ile doğrulanarak östrus fazında sakrifiye edildi. Sevofluran inhalasyon anestezisi altında derin anestezi ile, torakotomi ile kardiyak ponksiyon uygulanarak ötanazi gerçekleştirildi. Hipotalamus dokusunun RNA bütünlüğünü korumak için, sakrifikasyon işleminin hemen ardından kraniyal diseksiyon yapılarak hipotalamus bölgesi (arkuat nükleus, preoptik alan ve medial bazal hipotalamusu içerecek şekilde), Şekil 31 ve Şekil 32'de gösterildiği gibi hızla izole edildi ve -80°C'de saklanarak RT-PCR için hazır hale getirildi.



Şekil 31. Optik kiyazmanın ayrılması



Şekil 32. Hipotalamusun çıkarılması

3.10. Gen Ekspresyon Analizi

Sakrifikasyon aşamasında elde edilen hipotalamus dokuları, PBS içerisinde homojenizatör ile homojenize edildi ve hipotalamik uyarıcı (kisspeptin/KISS1R, galanin/GALR1, melanokortin/ MC4R, leptin/Ob-R, glutamat/ GluA1) ve baskılayıcı (NPY/Y1R, RFRP/GPR147, dynorfin/KOR, GABA/$GABA_A$) nöropeptitlerin ve bu nöropeptidler ile ilişkili reseptörlerin gen ekspresyonu analiz edildi.

3.10.1. Gen seçim gerekçeleri

Gen seçimleri, Tablo 4'te belirtildiği gibi fonksiyonlara ve hedeflere uygun olarak yapıldı.

Tablo 4. Gen seçim gerekçeleri

Peptid/Reseptör	Hedef Gen	Seçim Gerekçesi/Fonksiyon
Kisspeptin	KISS1	Kisspeptinin öncül genidir. Pubertenin başlamasında ve GnRH aktivatörü olarak görev yapar.
KISS1R	GPR54	Kisspeptin reseptörüdür. GnRH nöronlarını aktive eder, LH/FSH salınımını tetikler.
Galanin	GAL	Nöroendokrin fonsiyonlarda rol alır ve GnRH aktivatörü olarak görev yapar.
GALR1	GALR1	Galanin reseptörüdür.
Melanokortin	POMC	Melanokortin peptidlerinin öncü genidir. Enerji ve üreme arasında bağlantı kurar. GnRH aktivatörüdür.
MC4R	MC4R	Melanokortin 4 reseptörü. POMC türevi peptidlere yanıt verir.
Leptin	Lep	Adipositlerden salınır. Hipotalamik tokluk sinyalini başlatır ve GnRH aktivasyonunu sağlar.
Leptin R	Ob-R	Leptin reseptörüdür.
Glutamat	Slc17a6(VGLUT2)	Glutamaterjik nöron belirtecidir. Eksitatör sinaptik iletimde görevlidir. GnRH aktivasyonunuu sağlar.
GLUA1	Gria1	AMPA tipi glutamat reseptör alt birimidir.
NPY	NPY	Oreksijenik etki gösterir. GnRH inhibitörü olarak rol oynar.
Y1R	NPY1R	NPY'nin başlıca resepörüdür.
RFRP	NPVF	GnIH homolog peptiddir. GnRH salınımını baskılayarak üremeyi inhibe eder.
GPR147	NPFFR1	RFRP'nin bağlandığı reseptördür. Üreme aksını negatif düzenler.
Dinorfin	PDYN	Endojen opioiddir. Negatif feedbackle GnRH salınımını baskılar.
KOR	OPRK1	Kappa opioid reseptör. Dinorfinin bağlandığı inhibitör reseptördür.
GABA	GAD1 (GAD67)	GABA sentezinde görevli enzimdir. GnRH inhibisyonunda rol oynar.
$GABA_A$	Gabra1	GABA A tipi reseptör alt birimidir.
β-Actin	ACTB	Housekeeping gendir. Hücresel yapının korunmasında görevlidir. Ekspresyon normalize etmede kullanılır.

3.10.2. RNA izolasyonu

Toplam 49 sıçana ait hipotalamus doku homojenatlarından RNA izolasyonu, üretici firmanın yönergeleri doğrultusunda "Quick-RNA™ MicroPrep" (katalog no: 732-6820, Aurum™ Total RNA Mini Kit, U.S.A) kiti kullanılarak Tablo 5'te belirtildiği şekilde gerçekleştirildi.

Tablo 5. Quick-RNA TM MicroPrep RNA izolasyon protokolü

Etanol Ekleme	1:1 oranında RNA lizis tamponu ve etanol (%95-100) eklenir.
Kolona Yükleme	Örnek Zymo-Spin™ IC kolona yüklenir ve santrifüj edilir (10,000–16,000G x 30 sn). Kolonun içinde kalan örnek kullanılır.
DNase I Muamelesi	Kolon 400 µl RNA yıkama tamponu ile yıkanır ve santrifüj edilir, akan kısım atılır. Nükleaz içermeyen bir tüpe 5 µl DNase I (1 U/µl), 35 µl DNA sindirim tamponu eklenir. Karışım kolon matrisine eklenir. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilir.
Yıkama 1	400 µl RNA Prep Buffer eklenerek santrifüj edilir, akan kısım atılır.
Yıkama 2	700 µl RNA Wash Buffer eklenerek santrifüj edilir, akan kısım atılır.
Yıkama 3	400 µl RNA Wash Buffer eklenerek 1 dk santrifüf edilir, kolonun içinde kalan sıvı temiz tüpe alınır.
Elüsyon	15 µl RNase-Free Su kolona eklenir, santrifüj edilir.
Saklama	İzole edilmiş RNA hemen kullanılabilir veya dondurularak saklanabilir.

3.10.3. RNA saflık tayini

RNA konsantrasyonu ve saflığı, spektrofotometre ile 260 nm' de absorbans ölçülerek değerlendirildi. A260/A280 oranı 1,8- 2,0 arasında olan örnekler saf kabul edildi.

3.10.4. cDNA eldesi

Saflık kontrolü sonrasında uygun bulunan RNA örneklerinden cDNA sentezi, "SensiFAST cDNA Synthesis Kit" (katalog no: BIO-65053, BIOLINE LIFE SCIENCE COMP., U.S.A) kullanılarak, Tablo 6 ve Tablo 7'da belirtildiği protokole göre yapıldı.

Tablo 6. cDNA eldesi için master mix hazırlığı

Bileşen	**Miktar (20 µL reaksiyon için)**
Total RNA	Maksimum 1 µg
5x TransAmp Buffer	4 µL
Revers Transkriptaz	1 µL
RNase-free su	20 µL'ye tamamlanacak şekilde

Tablo 7. Revers transkripsiyon termal protokolü

Primerlerin bağlanması	25 ℃, 10 dakika
Revers transkripsiyon (RT)	42 ℃, 15 dakika
Enzim inaktivasyonu	85 ℃, 5 dakika
Soğutma	4 ℃

3.10.5. Primer dizaynı

Hedef genler ve referans gen (normalizasyon için) için gen spesifik primerler, NCBI Primer BLAST kullanılarak belirlendi (Tablo 8).

Tablo 8. Primer dizileri

Gen	Primer dizisi	Beklenen Gen Ürünü
Kisspeptin (KISS1)	Forward- 5′-TGCTGCTTCTCCTCTGTG-3′	≈120BP
	Reverse- 5′-CCAGGCATTAACGAGTTCC-3′	
KISS1R (GPR54)	Forward-5’- CTCGCTGGTCATCTACGTCA-3’	≈130 BP
	Reverse- 5’-CCAGTTGTAGTTCGGCAGGT-3’	
Galanin (Gal)	Forward- 5’-CACATGCCATTGACAACCAC-3’	≈145
	Reverse- 5’-AACTCCATTATAGTGCGGACG- 3’	
GALR1	Forward- 5’-TCGGGACAGCAACCAAAC-3’	≈140 BP
	Reverse- 5’-TGCAGATGATTGAGAACCTTGG-3	
α-MSH (POMC)	Forward- 5’-CGACGGAGGAGAAAAGAGGTT- 3’	≈110 BP
	Reverse- 5’-CTGAGGCTCTGTCGCGGGAA- 3’	
MC4R	Forward- 5’-TGGGTGTCATAAGCCTGTTGG-3’	≈115 BP
	Reverse- 5’-GCGTCCGTGTCCGTACTG-3’	
Leptin (Lep)	Forward- 5’-GAGACCCCTGTGTCGGTTC-3’	≈130 BP
	Reverse- 5’-CTGCGTGTGTGAAATGTCATT-3’	
Ob-R	Forward- 5’-CCCCCACTGAAAGACAGCTT-3’	≈145 BP
	Reverse- 5’-GGCTTCACAACAAGCATGGG-3’	
Glutamat (VGLUT2/ Slc17a6)	Forward- 5’-TGCTACCTCACAGGAGAATGGA-3’	≈100 BP
	Reverse- 5’-GCGCACCTTCTTGCACAAAT-3’	
GluA1 (GriA1)	Forward- 5’-CCAGGTGTCTTCTCCTTTCTTG-3’	≈150 BP
	Reverse- 5’-CTCGTCCCTCTTCAAACTCTTC-3’	
NPY	Forward- 5’-AGATCCAGCCCTGAGACACT-3’	≈135 BP
	Reverse- 5’-TTCAAGCCTTGTTCTGGGGG-3’	
Y1R	Forward- 5’-TGCTACTTCAAGATATACGTTCGC-3’	≈125 BP
	Reverse- 5’-ACGATGGAGAGCAGCATGAC-3’	
RFRP (NPVF)	Forward- 5’-CTCAGCAGCCAACCTTCC-3’	≈120 BP
	Reverse- 5’-AAACCAGCCAGTGTCTTG-3’	
GPR147 (NPFFR1)	Forward- 5’- CCCGAGAGGAGCATCACTTC-3’	≈140 BP
	Reverse- 5’-GTAGATGTGCGCGAAGAGCA-3’	
Dinorfin (PDYN)	Forward- 5’- CACGGAACTGACCAAGCTCT-3’	≈115 BP
	Reverse- 5’-GTCAGTGCCCAGTAGCTCAG-3’	
KOR (OPRK1)	Forward- 5’-GCCATCCCTGTTATCATCAC-3’	≈125 BP
	Reverse- 5’-GGTCTTCATCTTTGTGTATCGG-3’	
GABA (GAD67/GAD1)	Forward- 5’-GAACAACCATGGTGGGCTAC-3’	≈140 BP
	Reverse- 5’-GCCGATGATTCTGGTTCTGT-3’	
$GABA_A$ (GABRA1)	Forward- 5’-GCGACCATAGAACCGAAAGA-3’	≈145 BP
	Reverse- 5’-CCAAATAGCAGCGGAAAGG-3’	
ACTB	Forward - 5’-CCCGCGAGTACAACCTTCT-3’	≈150 BP
	Reverse -5’-CGTCATCCATGGCGAACT-3’	

3.10.6. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT- PCR)

Elde edilen cDNA örnekleri, RT- PCR analizinde üçer tekrar halinde incelendi. Gen ekspresyon değerlendirmesi, "The SensiFAST™ SYBR® Hi-ROX Kit" (katalog no: BIO-92020, Bioline Life Science Comp., U.S.A) kullanılarak Tablo 9 ve Tablo 10'daki prosedürlere uygun şekilde gerçekleştirildi.

Tablo 9. RT-PCR için master mix hazırlığı

Bileşen	Miktar (20 µL reaksiyon için)	Final konsantrasyon
2x SensiFAST SYBR® Hi-ROX Mix	10 µL	1x
10 µM Forward Primer	0.8 µL	400 nM
10 µM Reverse Primer	0.8 µL	400 nM
cDNA	≤ 8.4 µL	-
dH_2O	20 µL'ye tamamlayacak kadar	-

Tablo 10. RT-PCR termal protokolü

Polimer aktivasyonu	95 ºC'de 2 dakika
Denatürasyon	95 ºC'de 5 saniye
Polimer bağlanması ve uzama	65 ºC'de 20 saniye
Toplam döngü sayısı: 40	

Hazırlanan reaksiyon karışımları, 96 kuyucuklu plakalara yüklendi ve Bio-Rad CFX Connect Real-Time PCR Detection System (BIORAD, BD) cihazıyla yürütülen enzimatik süreç sonunda, 465-510 nm dalga boyundaki floresan sinyalleri ölçülerek gen ekspresyon düzeyleri belirlendi. Tüm sonuçlar, referans gen olarak seçilen "β-actin (ACTB)" üzerinden $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle göreceli olarak hesaplandı.

ΔCt (cycle treshold) = $Ct_{\text{hedef gen}} - Ct_{\text{referans gen}}$

ΔΔCt = $\Delta Ct_{\text{deney grubu}} - \Delta Ct_{\text{kontrol grubu}}$

Bağıl ekspresyon (Kat değişimi) = $2^{-\Delta\Delta Ct}$

3.11. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 23.0 (IBM) programı aracılığıyla yapıldı. Gen ekspresyon analizlerinde $2-\Delta\Delta Ct$ verileri ile kat değişimleri belirlendi. İstatistiksel

anlamlılık Student t testi ile hesaplandı.

2 grup arasındaki karşılaştırmalar için Student t testi, 2'den fazla grup karşılaştırmalarında One Way ANOVA testi kullanıldı. Tüm değerlendirmeler %95 güven aralığında, $p<0,05$ kriterine göre yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. ELISA

Deneyin 15. gününde alınan kan örneklerinin analiziyle, VCD grubunda, DMSO enjeksiyonu yapılan kontrol grubuna kıyasla serum AMH düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu gösterildi (p= 0,034).

Tablo 11. AMH düzeylerinin karşılaştırılması

	1. Gün AMH Düzeyleri (ng/ml)	**15. Gün AMH Düzeyleri (ng/ml)**
Kontrol	3,02 ± 1,00[a]	
VCD	2,85 ± 1,05[a]	0,20 ± 0,02[b]
DMSO	3,16 ± 1,09[a]	4,10 ± 1,43[a]
p değeri	**0,854***	**0,034[#]**
VCD+DHEA	2,89 ± 1,22[a]	0,63 ± 0.,5[b]
VCD+DMSO	3,19 ± 1,19[a]	0,52 ± 0,17[b]
DMSO+DHEA	3,27 ± 1,30[a]	4,00 ± 1,47[a]
DMSO+DMSO	3,51 ± 1,31[a]	4,16 ± 1,26[a]
p değeri	**0,907****	**0,021****

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.
*Üç grup arasındaki karşılaştırmalar için One Way ANOVA testi kullanıldı.
**Dört grup arasındaki karşılaştırmalar için One Way ANOVA testi kullanıldı.
İki grup karşılaştırmaları için Student's t-testi kullanıldı.
[a–b]Anlamlı farklılıklar, çiftler arası karşılaştırmalarda üst simge harfleri kullanılarak post hoc Tukey testi ile gösterildi.

4.2. Gen Ekspresyon Analizi

Deneklerin sakrifikasyonu sonrasında çıkarılan beyin dokularından hipotalamus dokuları elde edildi ve hipotalamus dokularından izole edilen total RNA, ters transkripsiyonla cDNA'ya çevrildi. Bu cDNA örnekleriyle, kisspeptin/KISS1R, galanin/GALR1, α-MSH/MC4R, Leptin/Ob-R, Glutamat/GluA1, Nöropeptid Y/Y1R, Dinorfin/KOR, RFRP/GPR147 ve GABA/$GABA_A$ genlerinin ifadeleri Real Time PCR yöntemiyle üçlü tekrarlarla analiz edildi. ACTB referans geni yardımıyla normalize edilmiş veriler, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemiyle istatistiksel olarak değerlendirildi.

4.2.1. Kisspeptin ve KISS1R ekspresyon seviyeleri

4.2.1.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında Kisspeptin ve KISS1R genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 12 ile Grafik 1 ve Grafik 2'de sunulmuştur.

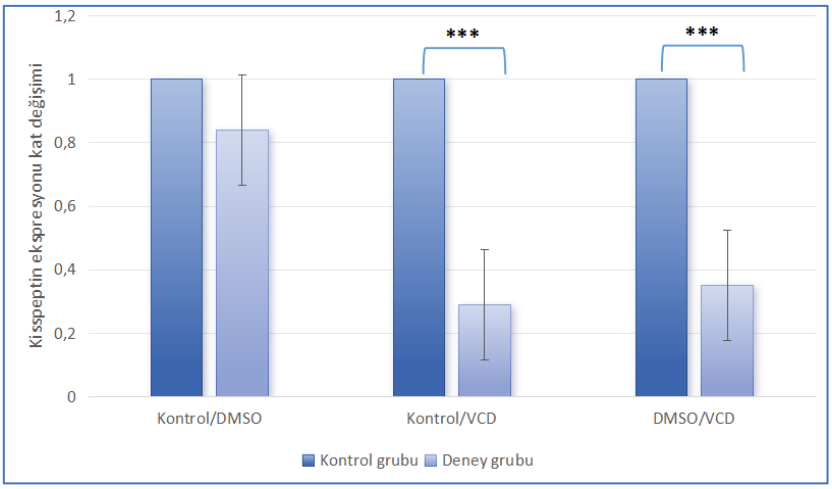
Karşılaştırma yapıldığında, Kontrol ile DMSO grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken (p= 0,65), VCD grubundaki Kisspeptin gen ifadesinin, hem kontrol grubuna göre 0,29 kat (p= 0,01) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,35 kat (p= 0,04) anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir.

KISS1R geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki KISS1R gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 0,30 kat (p <0,0001) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,28 kat (p <0,0001) anlamlı şekilde azalmıştır.

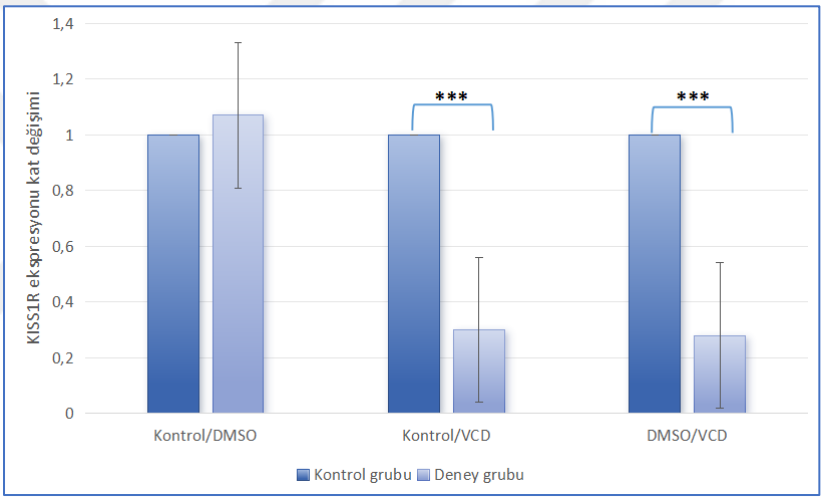
Tablo 12. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		**Ekspresyon kat değişim oranı***	**P****
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00419 ± 0,00221	0,00413 ± 0.00394	0,84	0,65
KISS1R	0,00374 ± 0,00131	0,00428 ± 0,00230	1,07	0,78
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00419 ± 0,00221	0,00147 ± 0,00128	0,29	**0,01**
KISS1R	0,00374 ± 0,00131	0,00119 ± 0,00066	0,30	**<0,0001**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00413 ± 0.00394	0,00147 ± 0,00128	0,35	**0,04**
KISS1R	0,00428 ± 0,00230	0,00119 ± 0,00066	0,28	**<0,0001**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Kisspeptin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 2. Kontrol, POY ve NOR deneklerin KISS1R gen ekspresyon değişimleri

4.2.1.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri

VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında Kisspeptin ve KISS1R genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 13 ve Grafik 3 ve Grafik 4'te sunulmuştur.

Karşılaştırmalar sonucunda, VCD+DHEA grubundaki Kisspeptin düzeyinin, VCD grubuna göre anlamlı şekilde 17,03 kat yüksek olduğu ($p<0,0001$) ve VCD+DHEA grubunda bu ifadenin VCD+DMSO grubuna göre 12,07 kat daha yüksek olduğu ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0,0001$).

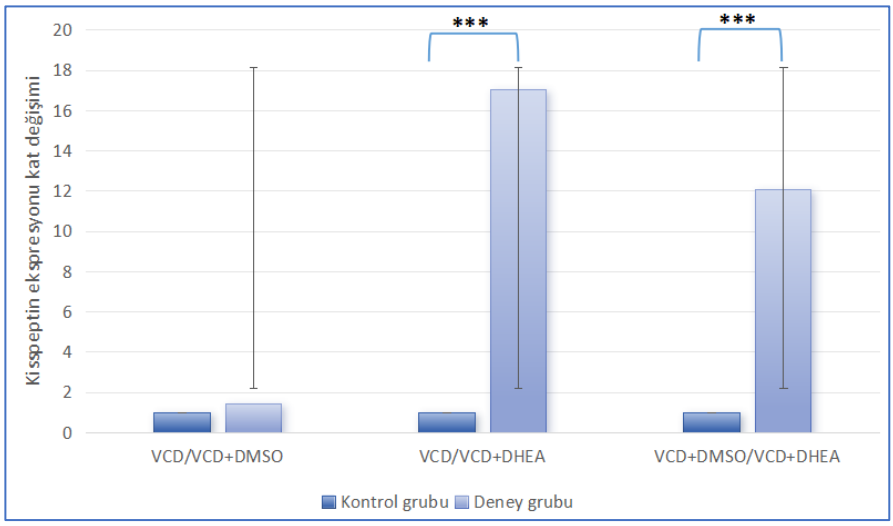
KISS1R geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD+DHEA grubundaki KISS1R

gen ifadesi, hem VCD grubuna göre 14,53 kat (p= 0,0002) hem de VCD+DMSO grubuna kıyasla 16,10 kat (p<0,0001) anlamlı şekilde artmıştır.

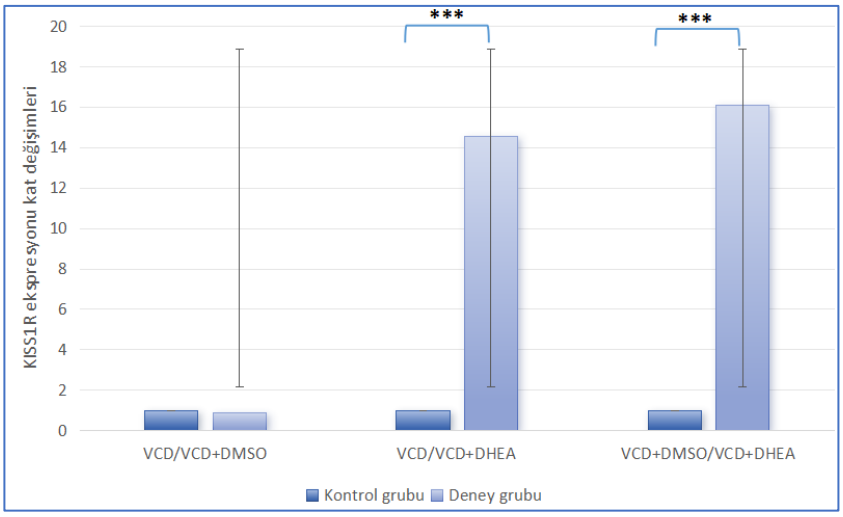
Tablo 13. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		**Ekspresyon kat değişim oranı***	**p****
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00147 ± 0,00128	0,00180 ± 0,00130	1,41	0,41
KISS1R	0,0019 ± 0,00066	0,00131 ± 0,00114	0,90	0,79
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00147 ± 0,00128	0,02349 ± 0,01818	17,03	**<0,0001**
KISS1R	0,0019 ± 0,00066	0,02207 ± 0,01780	14,53	**0,0002**
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00180 ± 0,00130	0,02349 + 0,01818	12,07	**<0,0001**
KISS1R	0,00131 ± 0,00114	0,02207 ± 0,01780	16,10	**<0,0001**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 3. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 4. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında KISS1R gen ekspresyon değişimleri

4.2.1.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri

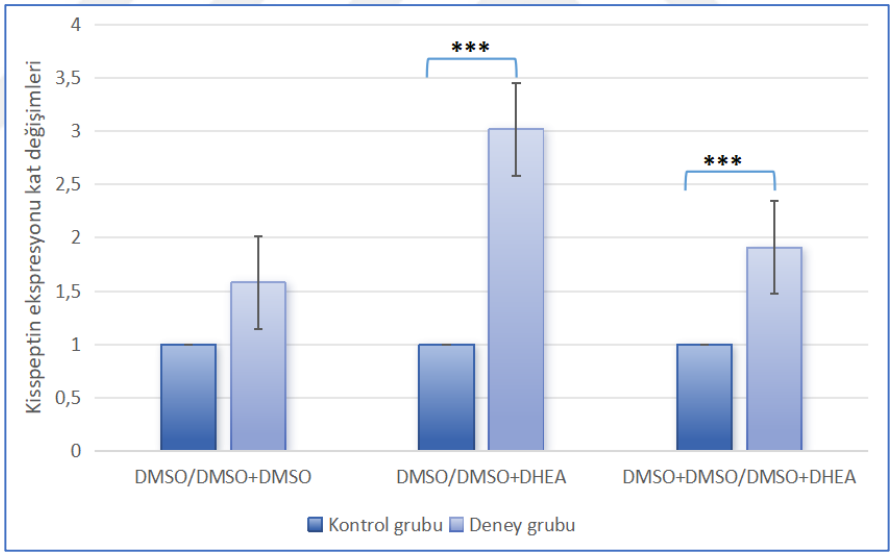
DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen Kisspeptin ve KISS1 genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 14 ve Grafik 5 ve Grafik 6'da gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda Kisspeptin ifadesinin DMSO+DHEA grubunda, DMSO grubuna göre 3,02 kat (p=0,01), DMSO+DMSO grubuna göre 1,91 kat (p=0,03) anlamlı olarak arttığı görülmüştür.

KISS1R seviyeleri ise NOR deney grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir.

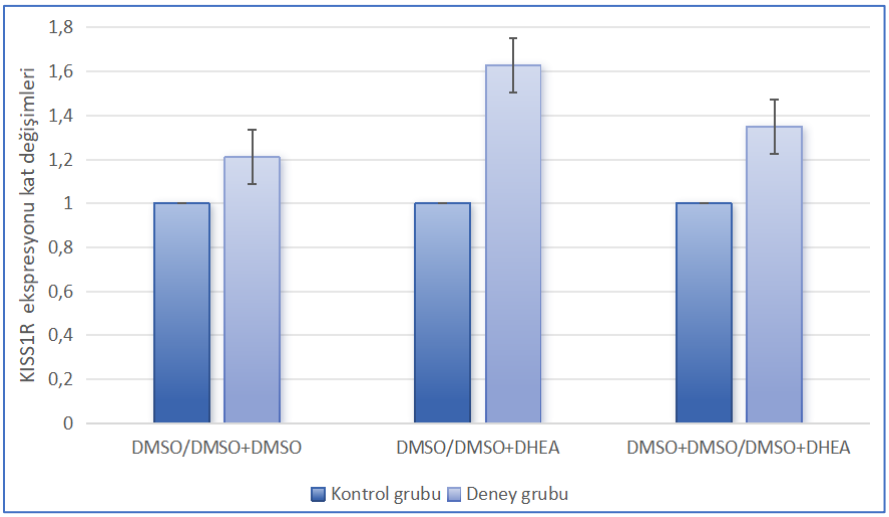
Tablo 14. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin/KISS1R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00413 ± 0,00394	0,00661 ± 0,00595	1,58	0,32
KISS1R	0,00428 ± 0,00230	0,00487 ± 0,00180	1,21	0,45
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00413 ± 0,00394	0,01051 ± 0,00554	3,02	**0,01**
KISS1R	0,00428 ± 0,00230	0,00946 ± 0,01130	1,63	0,26
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Kisspeptin	0,00661 ± 0,00595	0,01051 ± 0,00554	1,91	**0,03**
KISS1R	0,00487 ± 0,00180	0,00946 ± 0,01130	1,35	0,46

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 5. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Kisspeptin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 6. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında KISS1R gen ekspresyon değişimleri

4.2.2. Galanin ve GALR1 ekspresyon seviyeleri

4.2.2.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında Galanin ve GALR1 genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 15 ile Grafik 7 ve Grafik 8'de sunulmuştur.

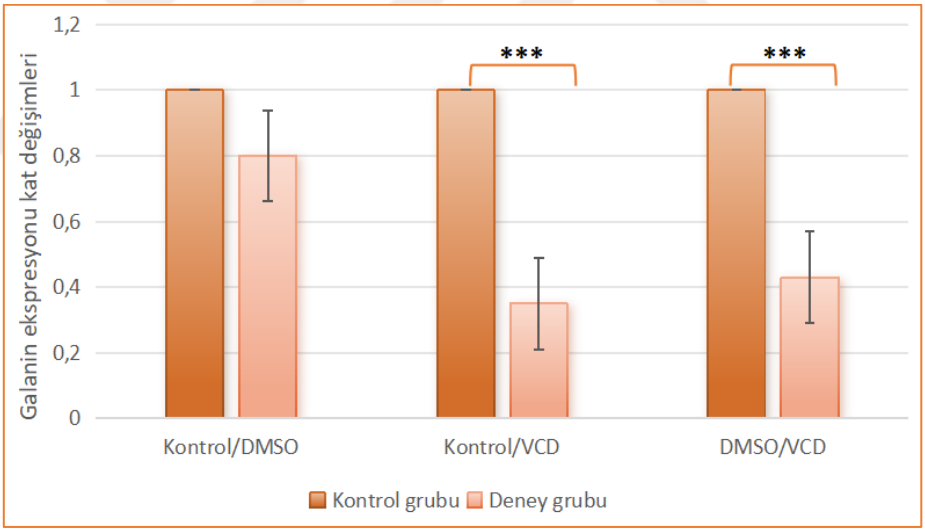
Karşılaştırma yapıldığında, Kontrol ile DMSO grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken (p=0,62), VCD grubundaki Galanin gen ifadesinin, hem kontrol grubuna göre 0,35 kat (p=0,02) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,43 kat (p=0,04) anlamlı şekilde daha düşük belirlenmiştir.

GALR1 geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki GALR1 gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 0,19 kat (p=0,0009) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,33 kat (p=0,03) anlamlı şekilde azalmıştır.

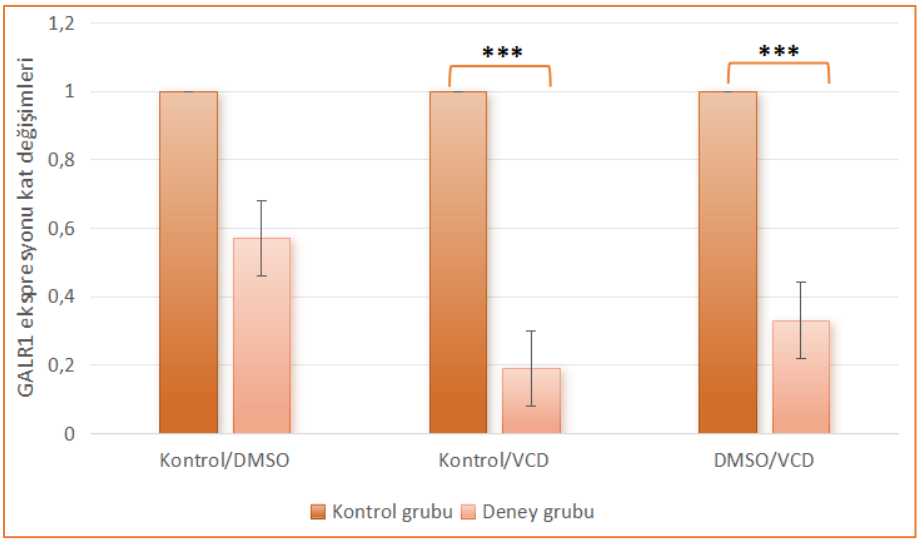
Tablo 15. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00758 ± 0,00738	0,00576 ± 0,00526	0,80	0,62
GALR1	0,00559 ± 0,00240	0,00401 ± 0,00322	0,57	0,19
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00758 ± 0,00738	0,00208 ± 0,00088	0,35	**0,02**
GALR1	0,00559 ± 0,00240	0,00128 ± 0,00107	0,19	**0,0009**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00576 ± 0,00526	0,00208 ± 0,00088	0,43	**0,04**
GALR1	0,00401 ± 0,00322	0,00128 ± 0,00107	0,33	**0,03**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 7. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Galanin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 8. Kontrol, POY ve NOR deneklerin GALR1 gen ekspresyon değişimleri

4.2.2.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri

VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında Galanin ve GALR1 genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 16 ve Grafik 9 ve Grafik 10'da sunulmuştur.

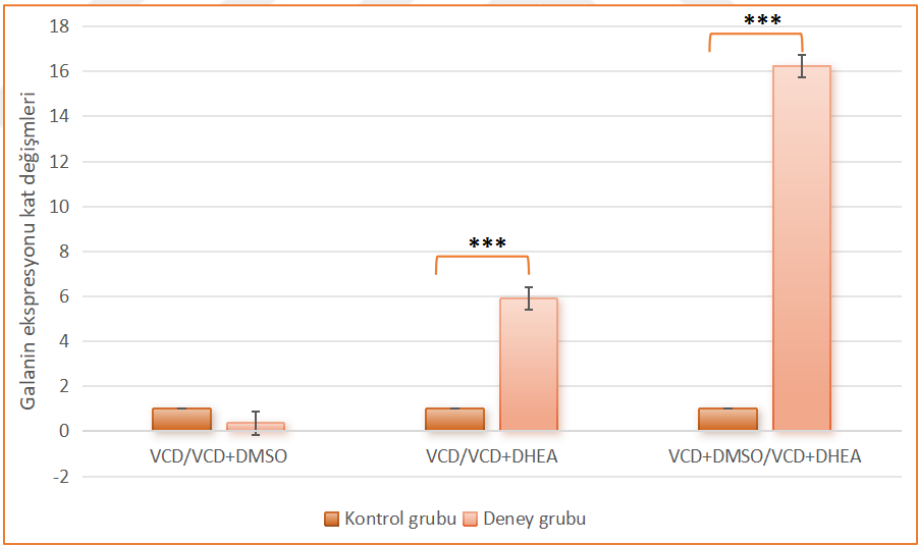
Karşılaştırmalar sonucunda, VCD+DHEA grubundaki Galanin düzeyinin hem VCD grubuna göre anlamlı şekilde 5,89 kat yüksek olduğu ($p<0,0001$), hem de ve VCD+DMSO grubuna göre 16,25 kat ($p= 0,0002$) anlamlı olarak arttığı saptandı.

GALR1 geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD+DHEA grubundaki GALR1 gen ifadesi, hem VCD grubuna göre 13,72 kat ($p<0,0001$), hem de VCD+DMSO grubuna kıyasla 13,99 kat ($p=0,0001$) anlamlı şekilde artmıştır.

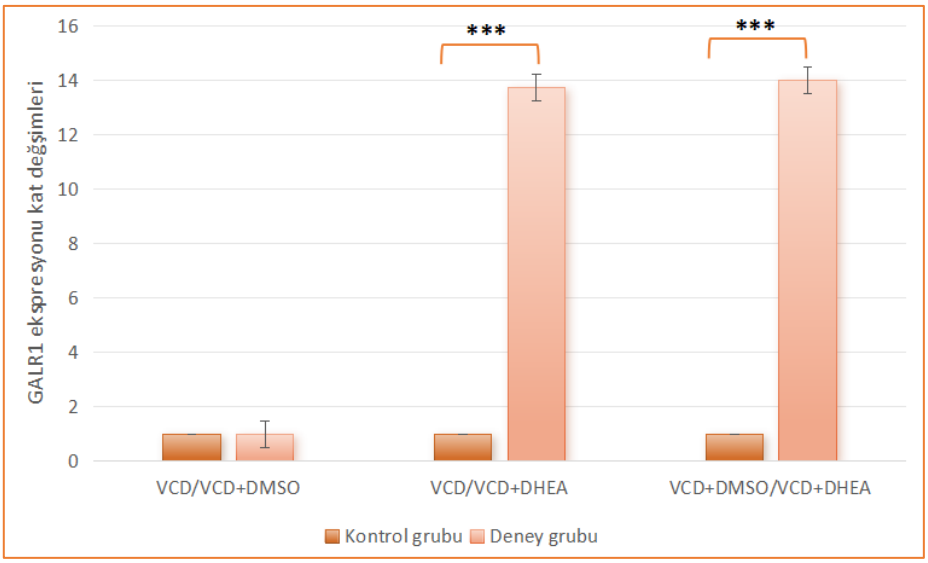
Tablo 16. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00208 ± 0,0088	0,00101 ± 0,00082	0,36	0,06
GALR1	0,00128 ± 0,00107	0,00127 ± 0,00097	0,98	0,97
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00208 ± 0,0088	0,01185 ± 0,00437	5,89	**<0,0001**
GALR1	0,00128 ± 0,00107	0,01545 ± 0,00979	13,72	**<0,0001**
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00101 ± 0,00082	0,00101 ± 0,00082	16,25	**0,0002**
GALR1	0,00127 ± 0,00097	0,01545 ± 0,00979	13,99	**0,0001**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 9. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 10. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GALR1 gen ekspresyon değişimleri

4.2.2.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri

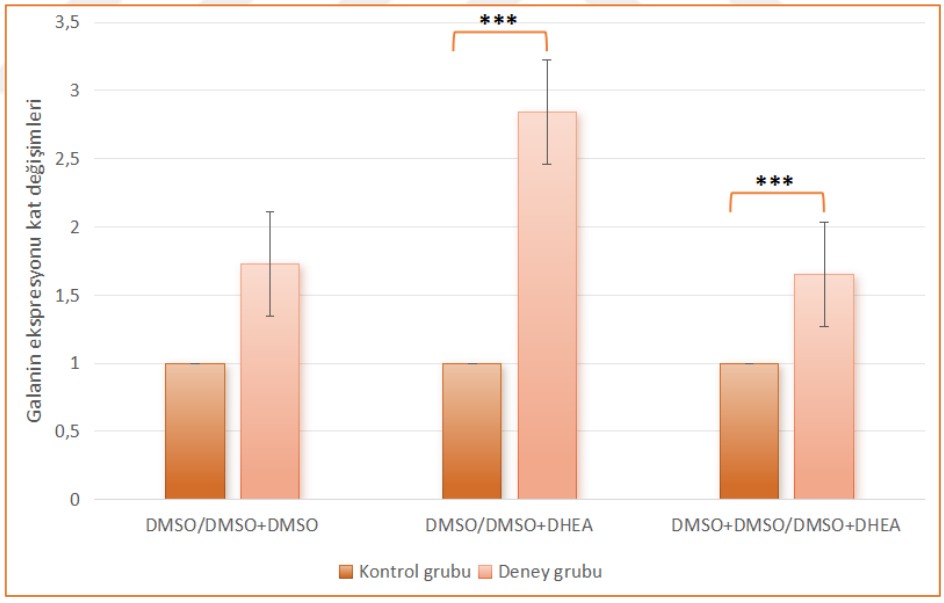
DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen Galanin ve GALR1 genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 17 ve Grafik 11 ve Grafik 12'de gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda DMSO+DHEA grubundaki Galanin seviyelerinin, hem DMSO grubuna göre 2,84 kat (p=0,03), hem de DMSO+DMSO grubuna göre 1,65 kat (p=0,04) olarak arttığı ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır.

GALR1 seviyeleri ise NOR deney grupları arasında anlamlı farklılık göstermemiştir.

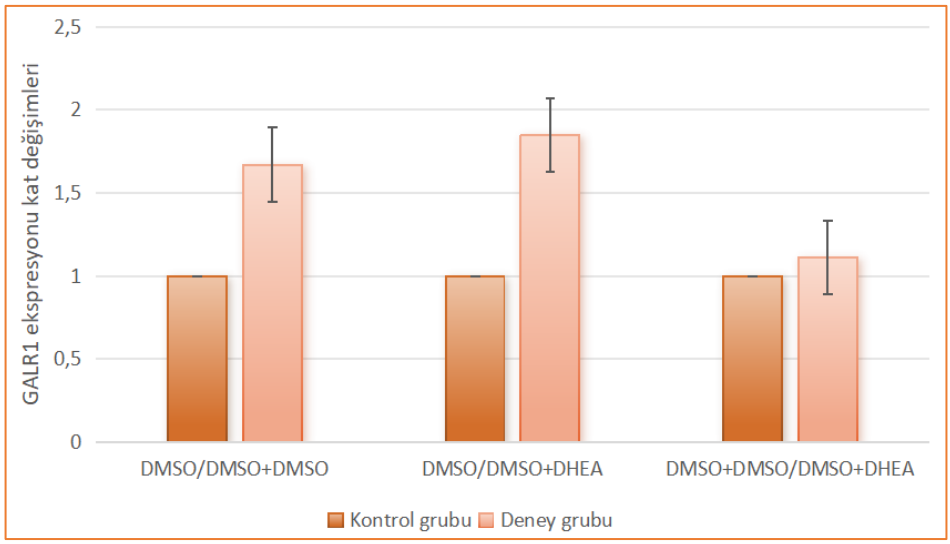
Tablo 17. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin/GALR1 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00576 ± 0,00526	0,00790 ± 0,00259	1,73	0,13
GALR1	0,00401 ± 0,00322	0,00539 ± 0,00253	1,67	0,22
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00576 ± 0,00526	0,01870 ± 0,02376	2,84	**0,03**
GALR1	0,00401 ± 0,00322	0,00620 ± 0,00328	1,85	0,16
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Galanin	0,00790 ± 0,00259	0,01870 ± 0,02376	1,65	**0,04**
GALR1	0,00539 ± 0,00253	0,00620 ± 0,00328	1,11	0,72

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 11. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Galanin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 12. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GALR1 gen ekspresyon değişimleri

4.2.3. α-MSH ve MC4R ekspresyon seviyeleri

4.2.3.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında α-MSH ve MC4R genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 18 ile Grafik 13 ve Grafik 14'te sunulmuştur.

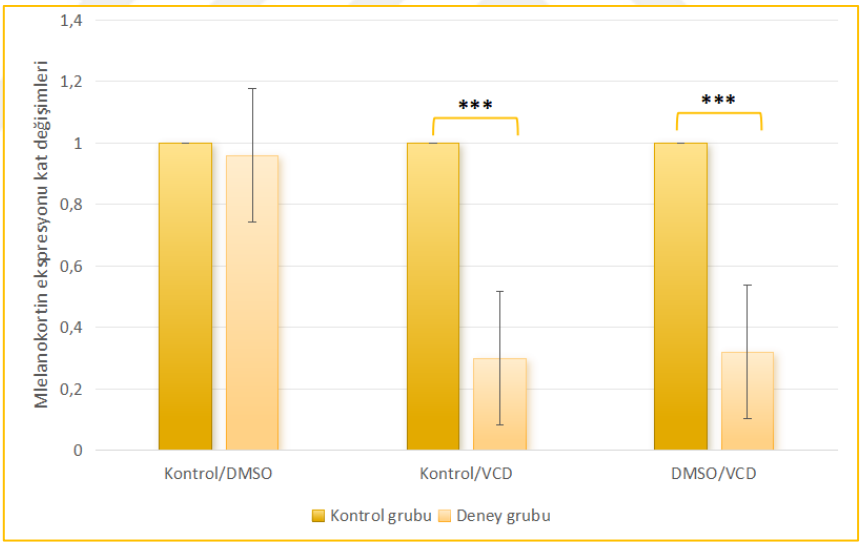
Karşılaştırma yapıldığında, VCD grubundaki α-MSH gen ifadesi, hem kontrol grubuna kıyasla 0,30 kat (p=0,02) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,32 kat (p=0,005) anlamlı bir azalma göstermiştir.

MC4R geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki GALR1 gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 0,29 kat (p=0,04) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,18 kat (p= 0,02) anlamlı olarak azalmıştır.

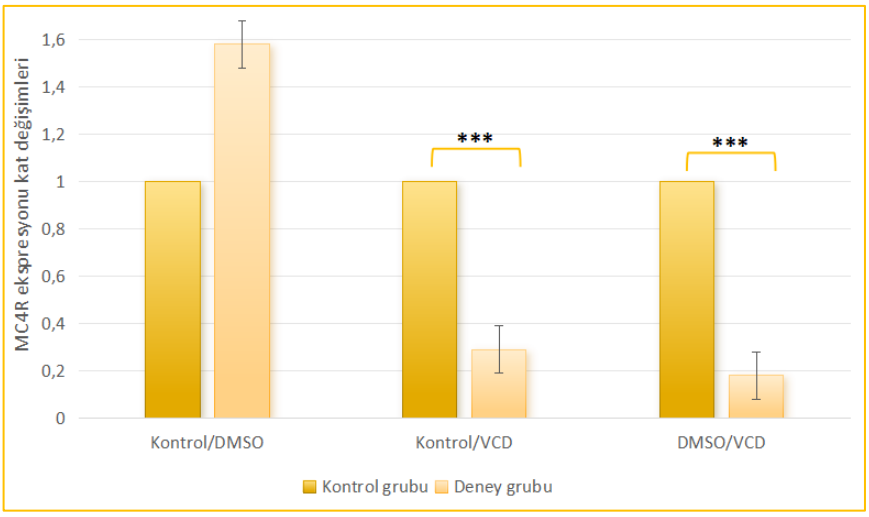
Tablo 18. Kontrol, POY ve NOR deneklerin α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00521 ± 0,00400	0,00463 ± 0,00412	0,96	0,93
MC4R	0,00550 ± 0,00341	0,00970 ± 0,00960	1,58	0,34
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00521 ± 0,00400	0,00125 ± 0,00061	0,30	**0,02**
MC4R	0,00550 ± 0,00341	0,00350 ± 0,00692	0,29	**0,04**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00463 ± 0,00412	0,00125 ± 0,00061	0,32	**0,005**
MC4R	0,00970 ± 0,00960	0,00350 ± 0,00692	0,18	**0,02**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 13. Kontrol, POY ve NOR deneklerin α-MSH gen ekspresyon değişimleri



Grafik 14. Kontrol, POY ve NOR deneklerin MC4R gen ekspresyon değişimleri

4.2.3.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri

VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında α-MSH ve MC4R genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 19 ve Grafik 15 ve Grafik 16'da sunulmuştur.

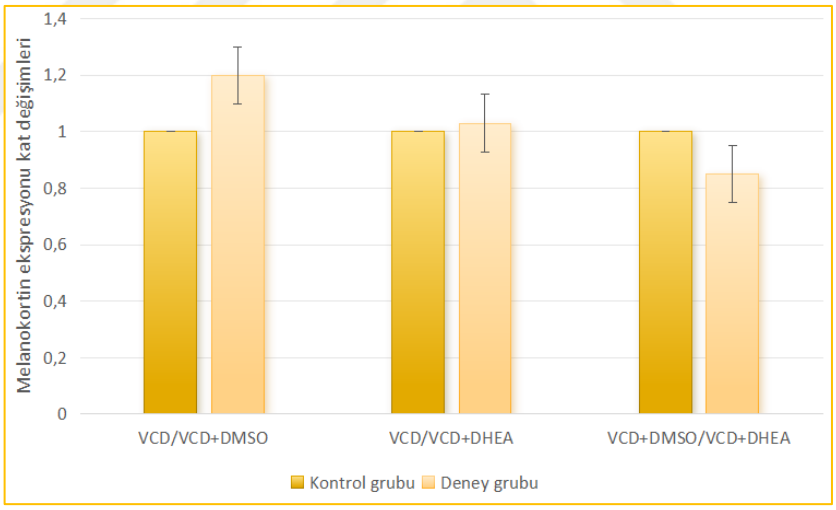
Karşılaştırmalar sonucunda, VCD+DMSO grubu, VCD grubu ve VCD+DHEA grupları arasında anlamlı fark saptanmadı.

MC4R geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD+DHEA, VCD ve VCD+DMSO gruplarında anlamlı fark yoktur.

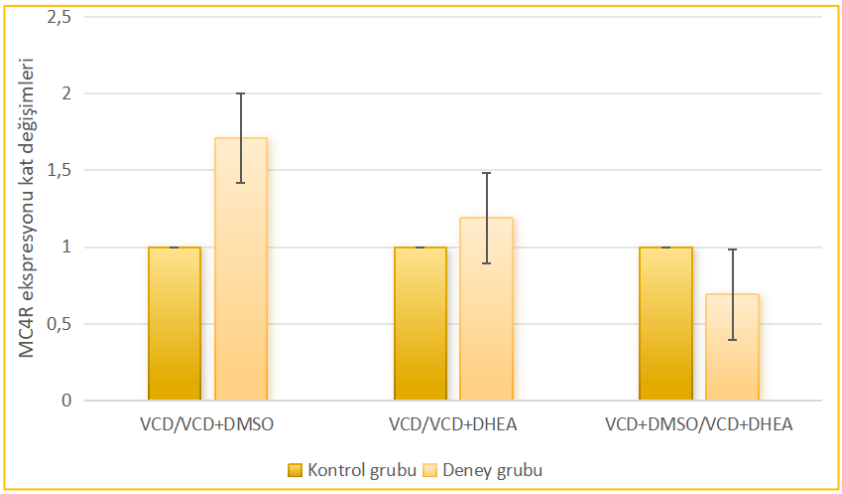
Tablo 19. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00125 ± 0,00061	0,00175 ± 0, 00153	1,2	0,58
MC4R	0,00550 ± 0,00341	0,00230 ± 0,00084	1,71	0,32
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00125 ± 0,00061	0,00145 ± 0,00109	1,03	0,93
MC4R	0,00550 ± 0,00341	0,00174 ± 0,00096	1,19	0,76
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00175 ± 0, 00153	0,00145 ± 0,00109	0,85	0,69
MC4R	0,00230 ± 0,00084	0,00174 ± 0,00096	0,69	0,22

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 15. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH gen ekspresyon değişimleri



Grafik 16. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında MC4R gen ekspresyon değişimleri

4.2.3.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri

DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen α-MSH ve MC4R genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 20 ve Grafik 17 ve Grafik 18'de gösterilmiştir.

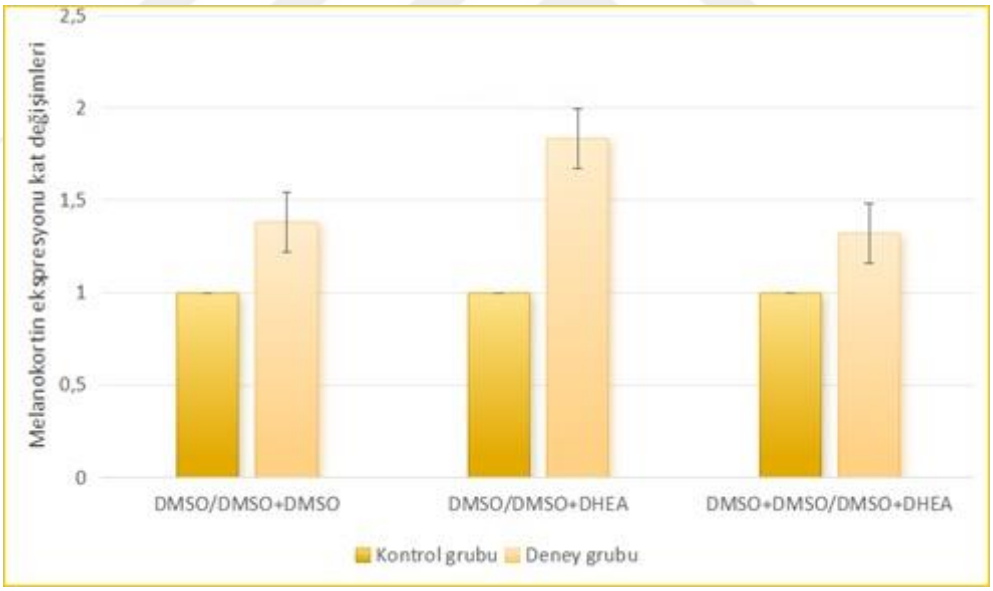
Yapılan karşılaştırmalar sonucunda, α-MSH ifadesinin gruplar arasında anlamlı olarak değişmediği belirlenmiştir.

MC4R seviyeleri karşılaştırıldığında, DMSO+DHEA grubunda MC4R ifadesinin, hem DMSO grubuna göre 0,34 kat (p=0,02), hem de DMSO+DMSO grubuna göre 0,4 kat (p=0,01) anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır.

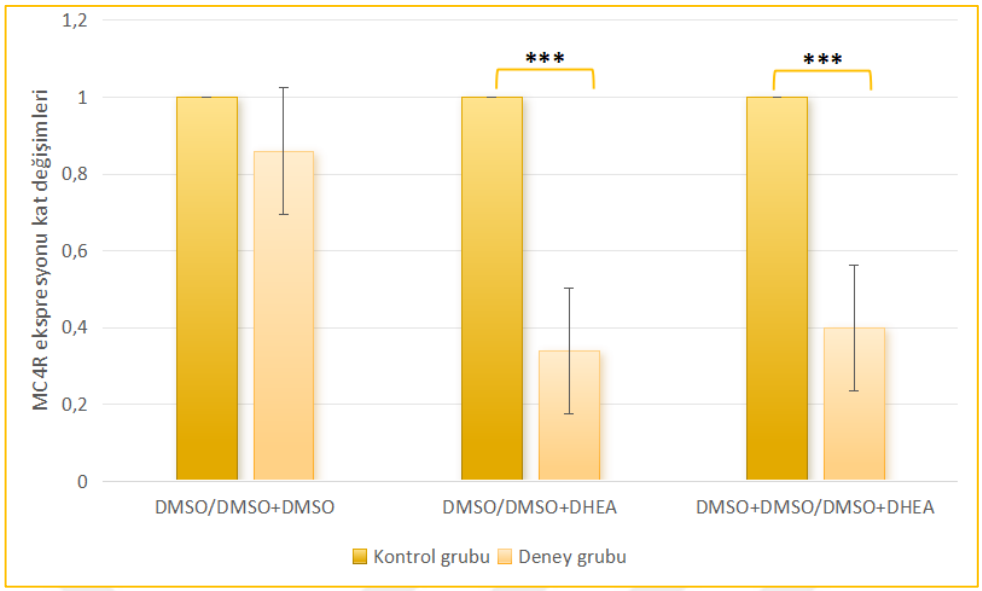
Tablo 20. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH /MC4R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00463 ± 0,00412	0,00635 ± 0,00396	1,38	0,45
MC4R	0,00970 ± 0,00960	0,00687 ± 0,00423	0,86	0,71
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00463 ± 0,00412	0,00719 ± 0,00340	1,83	0,09
MC4R	0,00970 ± 0,00960	0,00263 ± 0,00157	0,34	**0,02**
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
α-MSH	0,00635 ± 0,00396	0,00719 ± 0,00340	1,32	0,46
MC4R	0,00687 ± 0,00423	0,00263 ± 0,00157	0,4	**0,01**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 17. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında α-MSH gen ekspresyon değişimleri



Grafik 18. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında MC4R gen ekspresyon değişimleri

4.2.4. Leptin ve Ob-R ekspresyon seviyeleri

4.2.4.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında Leptin ve Ob-R genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 21 ile Grafik 19 ve Grafik 20'de sunulmuştur.

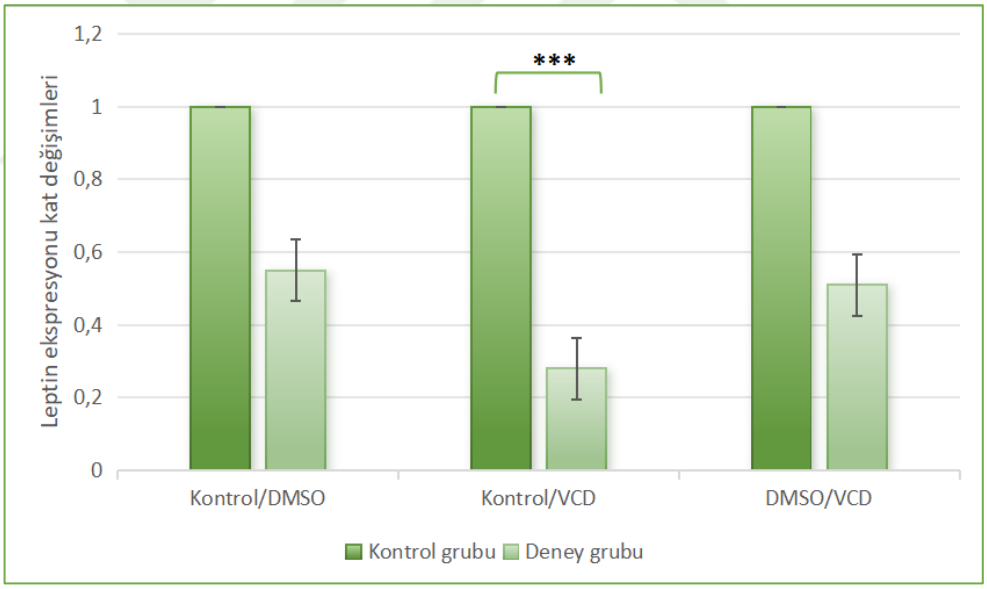
Karşılaştırma yapıldığında, VCD grubundaki Leptin gen ifadesi, kontrol grubuna göre 0,28 kat ($p=0,007$) anlamlı bir azalış göstermiştir, ancak DMSO grubuyla VCD grubu arasında ($p=0,11$) anlamlı fark görülmemiştir.

Ob-R geni için karşılaştırma yapıldığında; gruplar arasında Ob-R gen ifadesi anlamlı bir değişiklik göstermemiştir.

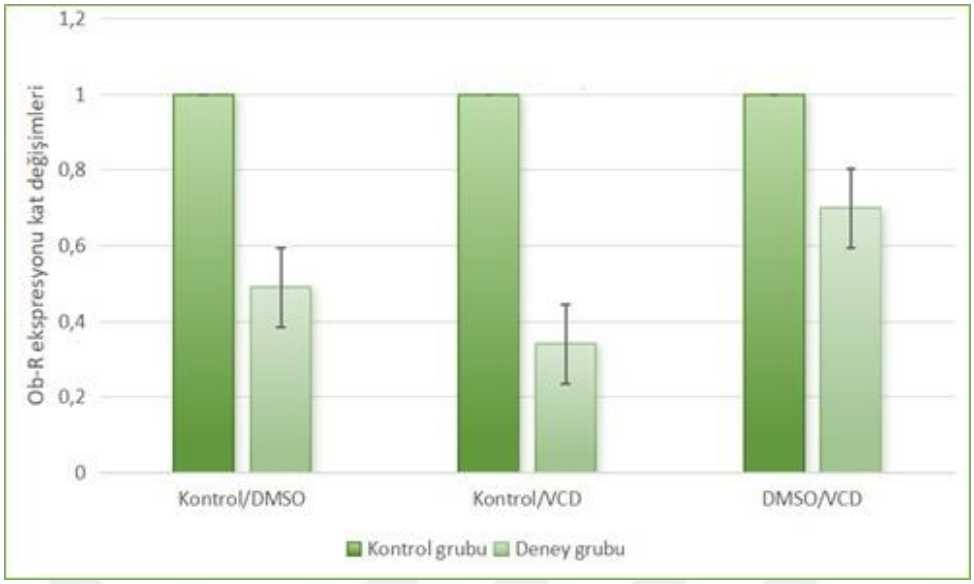
Tablo 21. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00728 ± 0,00785	0,00375 ± 0,00305	0,55	0,15
Ob-R	0,00709 ± 0,00665	0,00325 ± 0,00215	0,49	0,10
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00728 ± 0,00785	0,00185 ± 0,00126	0,28	**0,007**
Ob-R	0,00709 ± 0,00665	0,00376 ± 0,00558	0,34	0,08
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00375 ± 0,00305	0,00185 ± 0,00126	0,51	0,11
Ob-R	0,00325 ± 0,00215	0,00376 ± 0,00558	0,70	0,52

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 19. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Leptin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 20. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Ob-R gen ekspresyon değişimleri

4.2.4.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri

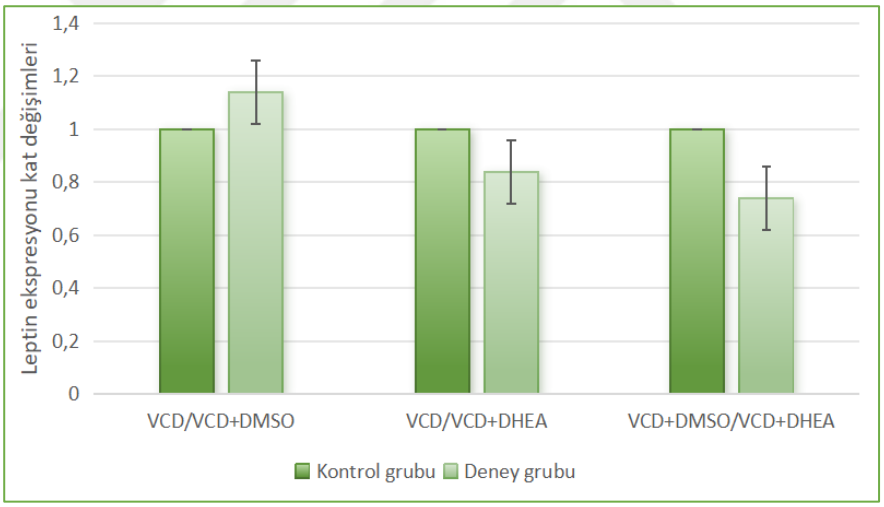
VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında Leptin ve Ob-R genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 22 ile Grafik 21 ve Grafik 22'de sunulmuştur.

Karşılaştırmalar sonucunda, gruplar arasında Leptin ve Ob-R gen ekspresyonlarında anlamlı fark görülmemiştir.

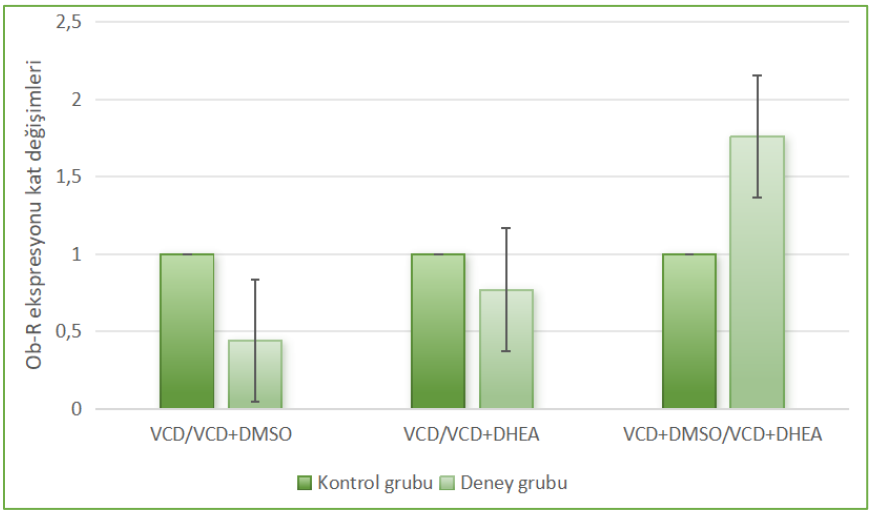
Tablo 22. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00185 ± 0,00126	0,00256 ± 0,00208	1,14	0,80
Ob-R	0,00376 ± 0,00558	0,00095 ± 0,00057	0,44	0,15
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00185 ± 0,00126	0,00202 ± 0,00180	0,84	0,74
Ob-R	0,00376 ± 0,00558	0,00191 ± 0,00143	0,77	0,66
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00256 ± 0,00208	0,00202 ± 0,00180	0,74	0,62
Ob-R	0,00095 ± 0,00057	0,00191 ± 0,00143	1,76	0,20

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 21. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 22. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Ob-R gen ekspresyon değişimleri

4.2.4.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri

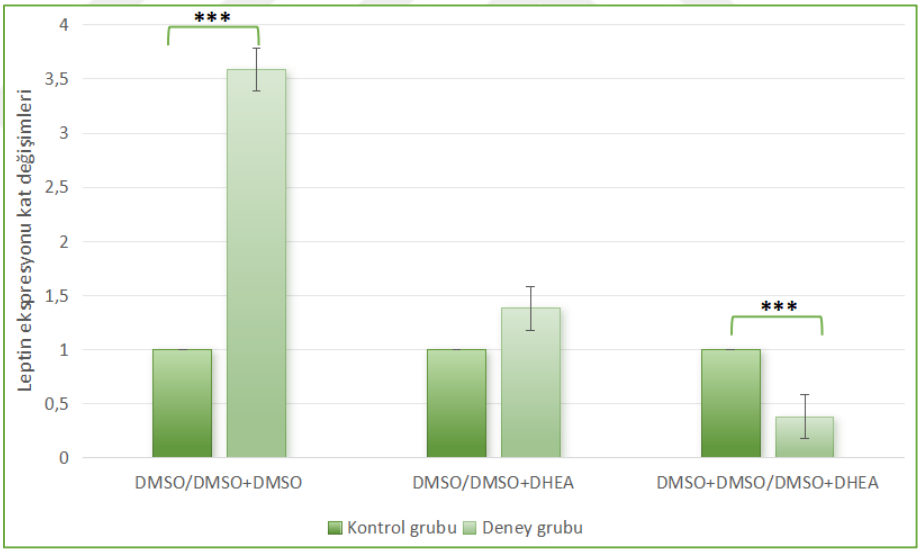
DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen Leptin ve Ob-R genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 23 ile Grafik 23 ve Grafik 24'te gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda, Leptin düzeylerinin DMSO+DMSO grubunda, DMSO grubuna kıyasla anlamlı olarak 3,59 kat (p=0,006) daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca DMSO+DHEA grubundaki Leptin seviyeleri, DMSO+DMSO grubuna göre anlamlı 0,38 kat (p=0,02) azalmıştır.

Gruplar arasında Ob-R gen ekspresyon seviyelerinde anlamlı fark yoktur.

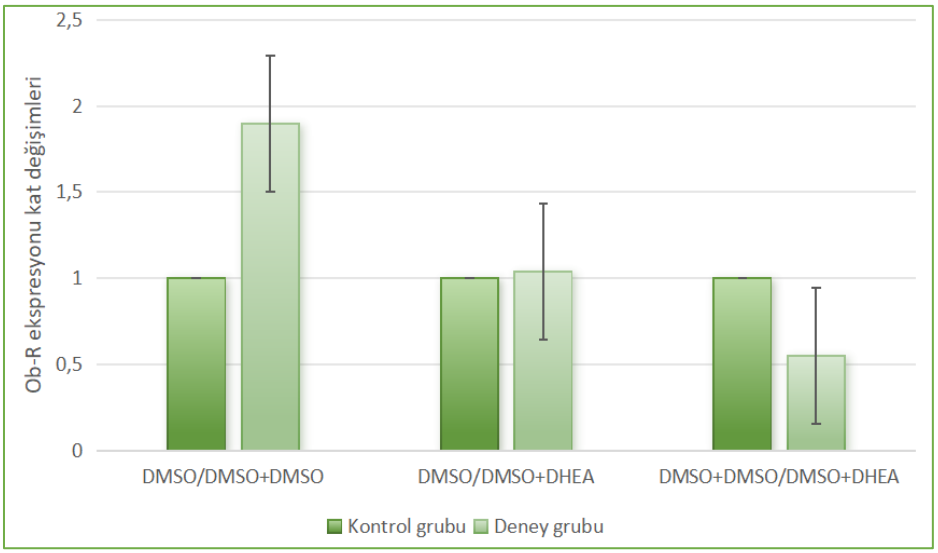
Tablo 23. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin/Ob-R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00375 ± 0,00305	0,01268 ± 0,00697	3,59	**0,006**
Ob-R	0,00325 ± 0,00215	0,00706 ± 0,00559	1,90	0,19
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,00375 ± 0,00305	0,00458 ± 0,00247	1,38	0,36
Ob-R	0,00325 ± 0,00215	0,00434 ± 0,00548	1,04	0,94
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Leptin	0,01268 ± 0,00697	0,00458 ± 0,00247	0,38	**0,02**
Ob-R	0,00706 ± 0,00559	0,00434 ± 0,00548	0,55	0,27

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 23. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Leptin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 24. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Ob-R gen ekspresyon değişimleri

4.2.5. Glutamat ve GluA1 ekspresyon seviyeleri

4.2.5.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında Glutamat ve GluA1 genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 24 ile Grafik 25 ve Grafik 26'da sunulmuştur.

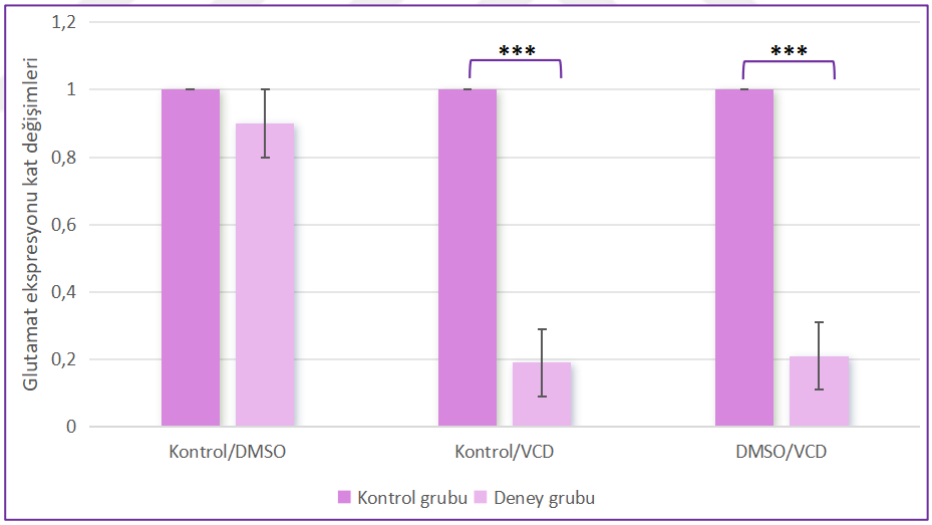
Karşılaştırma yapıldığında, Kontrol ile DMSO grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken (p= 0,65), VCD grubundaki Glutamat gen ifadesinin, hem kontrol grubuna göre 0,19 kat (p= 0,003) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,21 kat (p= 0,01) anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir.

GluA1 geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki GluA1 gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 0,29 kat (p=0,01) hem de DMSO grubuna kıyasla 0,35 kat (p=0,04) anlamlı şekilde azalmıştır.

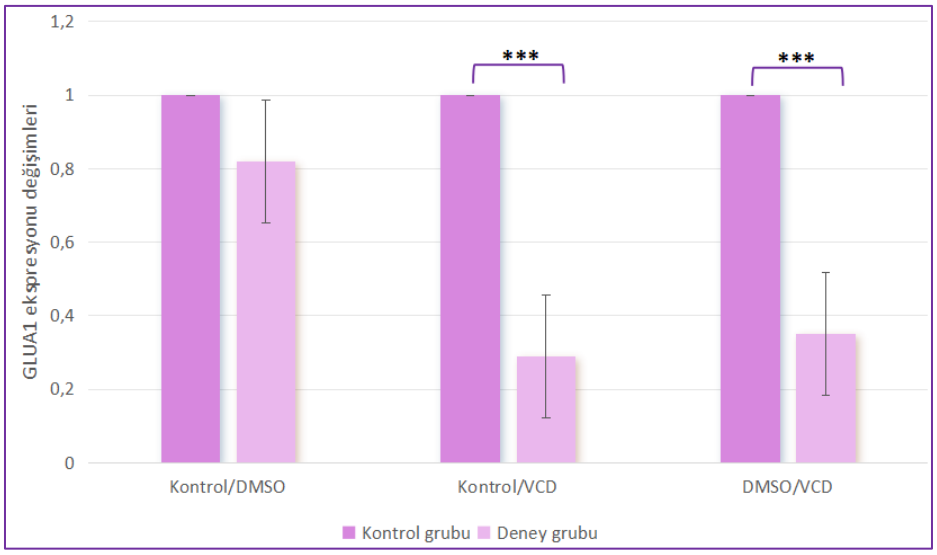
Tablo 24. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00629 ± 0,00281	0,00793 ± 0,00824	0,90	0,81
GluA1	0,00513 ± 0,00381	0,00437 ± 0,00250	0,82	0,66
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00629 ± 0,00281	0,00173 ± 0,00216	0,19	**0,003**
GluA1	0,00513 ± 0,00381	0,00182 ± 0,00144	0,29	**0,03**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00793 ± 0,00824	0,00173 ± 0,00216	0,21	**0,01**
GluA1	0,00437 ± 0,00250	0,00182 ± 0,00144	0,35	**0,04**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 25. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Glutamat gen ekspresyon değişimleri



Grafik 26. Kontrol, POY ve NOR deneklerin GLUA1 gen ekspresyon değişimleri

4.2.5.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri

VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında Glutamat ve GLUA1 genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 25 ve Grafik 27 ve Grafik 28'de sunulmuştur.

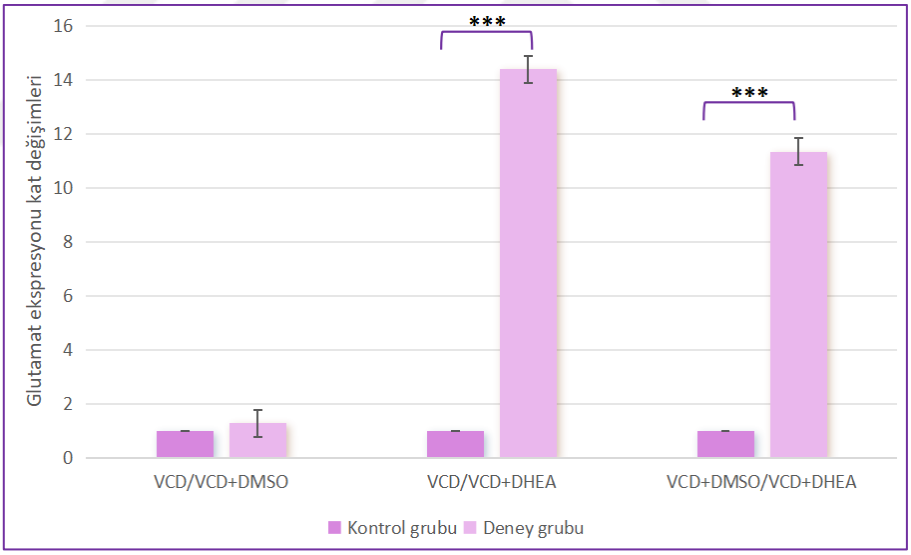
Karşılaştırmalar sonucunda, VCD+DHEA grubundaki Glutamat düzeyinin, VCD grubuna göre anlamlı şekilde 14,4 kat yüksek olduğu ($p<0,0001$) ve VCD+DHEA grubunda bu ifadenin VCD+DMSO grubuna göre 12,72 kat daha yüksek olduğu ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0,0001$).

GluA1 geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD+DHEA grubundaki GluA1 gen ifadesi, hem VCD grubuna göre 9,95 kat ($p= 0,001$) hem de VCD+DMSO grubuna kıyasla 12,72 kat ($p<0,0001$) anlamlı şekilde artmıştır.

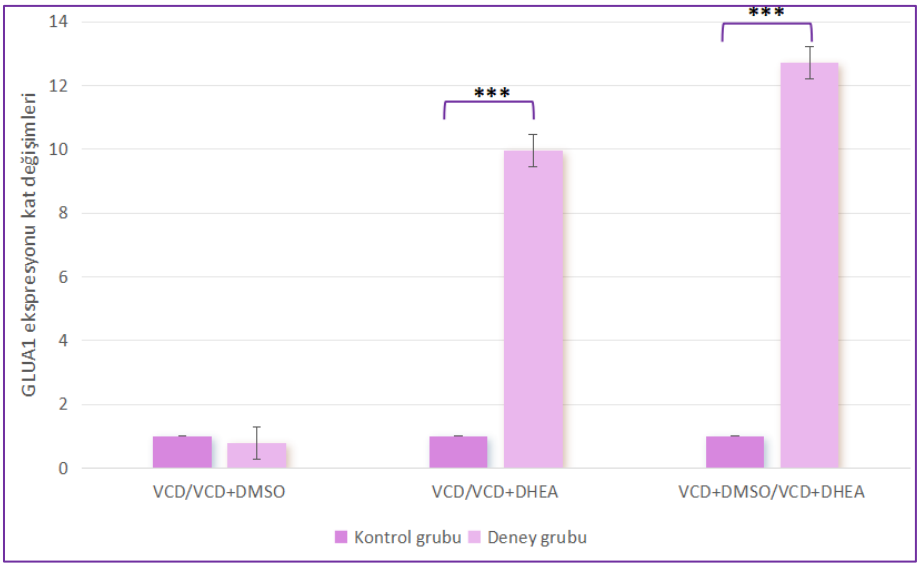
Tablo 25. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00173 ± 0,00216	0,00175 ± 0,00134	1,27	0,61
GluA1	0,00182 ± 0,00144	0,00102 ± 0,0047	0,78	0,61
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00173 ± 0,00216	0,02028 ± 0,01655	14,4	**<0,0001**
GluA1	0,00182 ± 0,00144	0,01272 ± 0,00528	9,95	**0,001**
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00175 ± 0,00134	0,02028 ± 0,01655	11,35	**<0,0001**
GluA1	0,00102 ± 0,0047	0,01272 ± 0,00528	12,72	**<0,0001**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 27. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat gen ekspresyon değişimleri



Grafik 28. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GluA1 gen ekspresyon değişimleri

4.2.5.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri

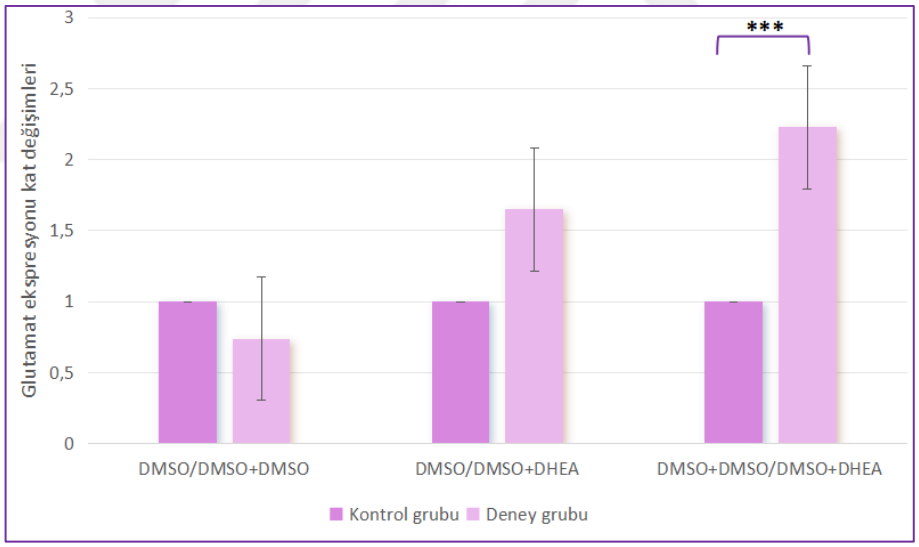
DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen Glutamat ve GluA1 genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 26 ile Grafik 29 ve Grafik 30'da gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda DMSO+DHEA grubunda Glutamat seviyelerinin, DMSO+DMSO grubuna kıyasla anlamlı olarak 2,23 kat (p=0,03) daha yüksek olduğu saptanmıştır.

GluA1 gen düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

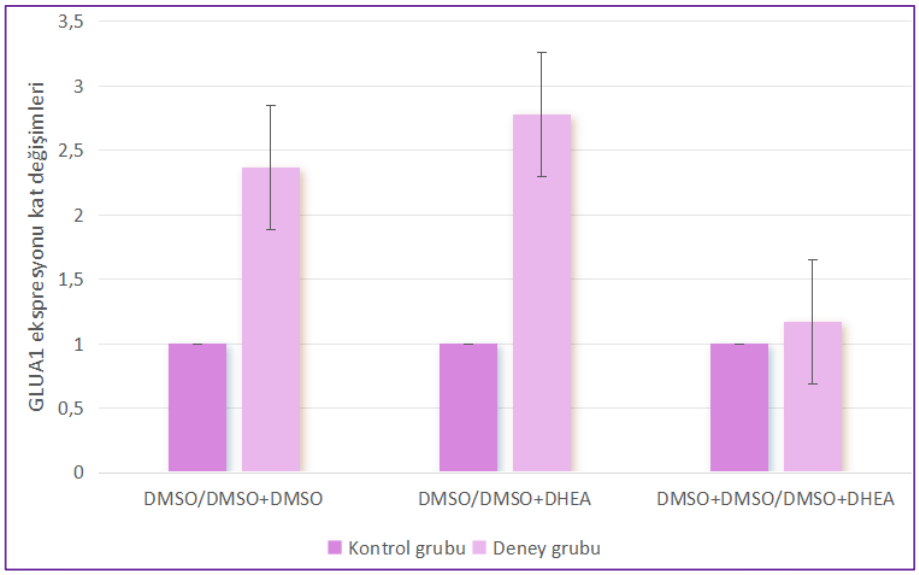
Tablo 26. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat/GluA1 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00793 ± 0,00824	0,00434 ± 0,00212	0,74	0,52
GluA1	0,00437 ± 0,00250	0,01064 ± 0,00620	2,37	0,12
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00793 ± 0,00824	0,01065 ± 0,00870	1,65	0,31
GluA1	0,00437 ± 0,00250	0,01392 ± 0,01547	2,78	0,06
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Glutamat	0,00434 ± 0,00212	0,01065 ± 0,00870	2,23	**0,03**
GluA1	0,01064 ± 0,00620	0,01392 ± 0,01547	1,17	0,76

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 29. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Glutamat gen ekspresyon değişimleri



Grafik 30. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GLUA1 gen ekspresyon değişimleri

4.2.6. Nöropeptid Y ve Y1R ekspresyon seviyeleri

4.2.6.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında Nöropeptid Y ve Y1R genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 27 ile Grafik 31 ve Grafik 32'de sunulmuştur.

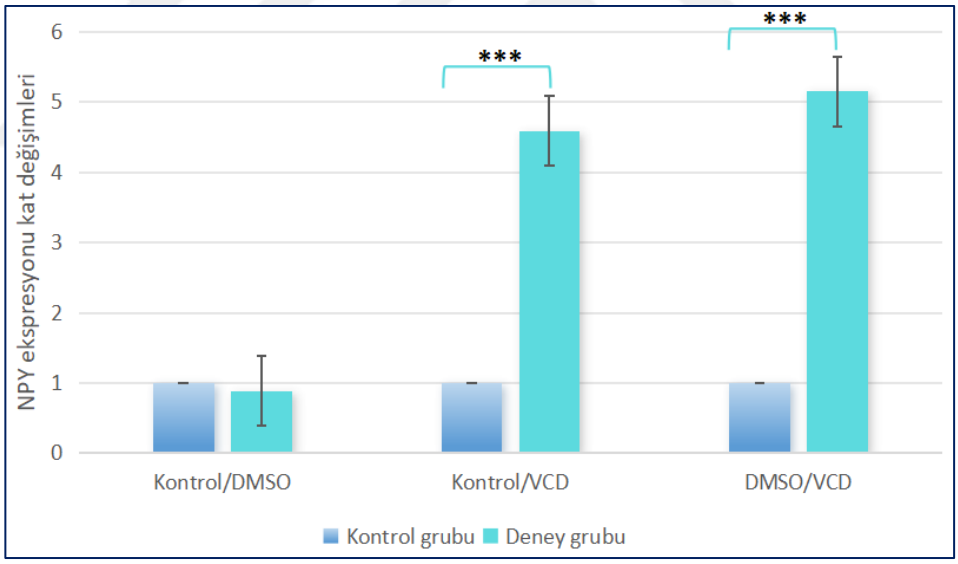
Karşılaştırma yapıldığında, Kontrol ile DMSO grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken (p=0,65), VCD grubundaki Nöropeptid Y gen ifadesinin, hem kontrol grubuna göre 4,59 kat (p=0,004) hem de DMSO grubuna kıyasla 5,15 kat (p=0,0002) anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir.

Y1R geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki Y1R gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 5,28 kat (p=0,01) hem de DMSO grubuna kıyasla 4,86 kat (p=0,04) anlamlı şekilde artmıştır.

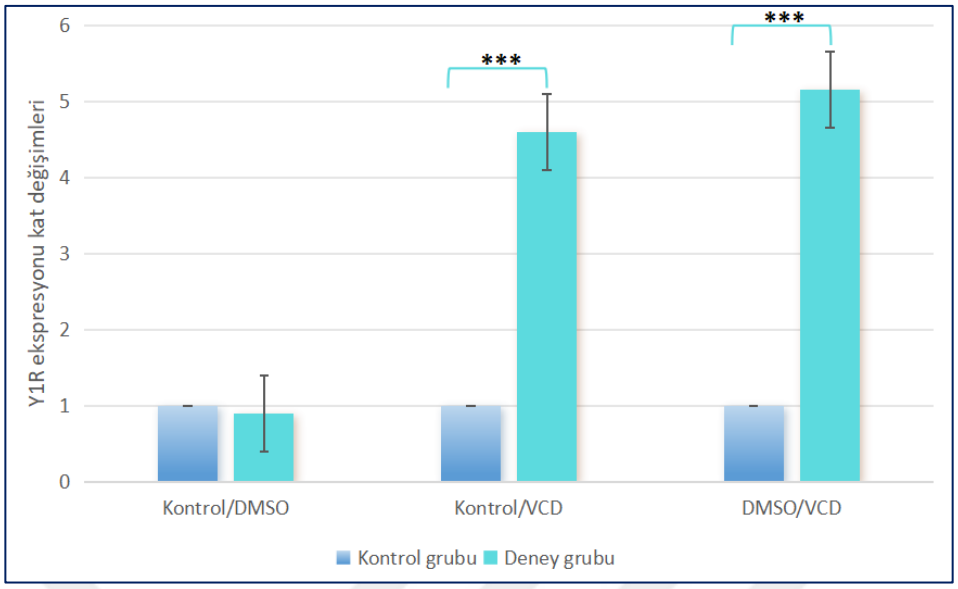
Tablo 27. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,00600 ± 0,00254	0,00547 ± 0,00286	0,89	0,65
Y1R	0,00517 ± 0,00332	0,00763 ± 0,00634	1,09	0,89
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,00600 ± 0,00254	0,03935 ± 0,04785	4,59	**0,004**
Y1R	0,00517 ± 0,00332	0,03705 ± 0,03499	5,28	**0,01**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,00547 ± 0,00286	0,03935 ± 0,04785	5,15	**0,002**
Y1R	0,00763 ± 0,00634	0,03705 ± 0,03499	4,86	**0,04**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 31. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Nöropeptid Y gen ekspresyon değişimleri



Grafik 32. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Y1R gen ekspresyon değişimleri

4.2.6.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri

VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında Nöropeptid Y ve Y1R genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 28 ile Grafik 33 ve Grafik 34'te sunulmuştur.

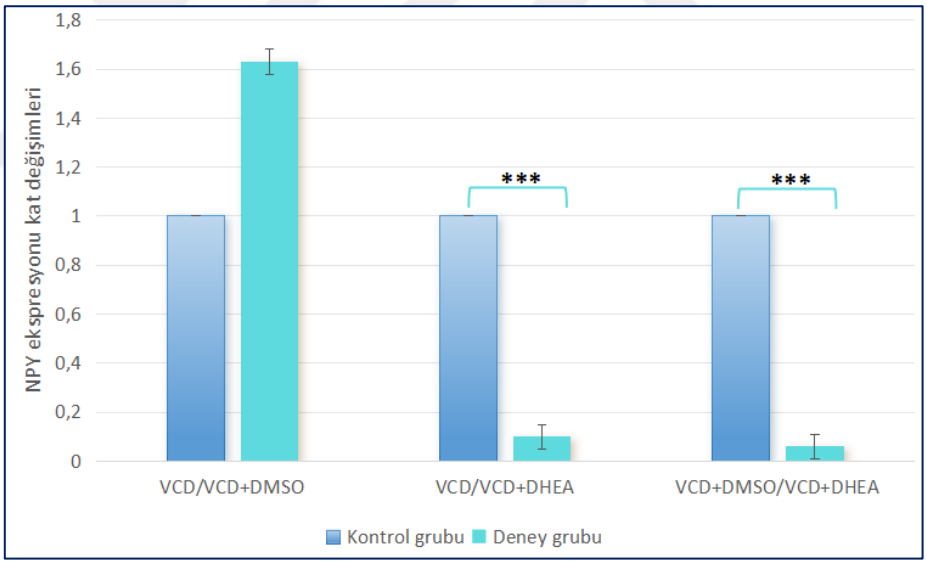
Karşılaştırmalar sonucunda, VCD+DHEA grubundaki Nöropeptid Y düzeyinin, VCD grubuna göre anlamlı şekilde 0,1 kat düşük olduğu ($p=0,0004$) ve VCD+DHEA grubunda bu ifadenin VCD+DMSO grubuna göre 0,06 kat daha düşük olduğu ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p<0,0001$).

Y1R geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD+DHEA grubundaki Y1R gen ifadesi, hem VCD grubuna göre 0,14 kat ($p= 0,008$) hem de VCD+DMSO grubuna kıyasla 0,08 kat ($p=0,0006$) anlamlı şekilde azalmıştır.

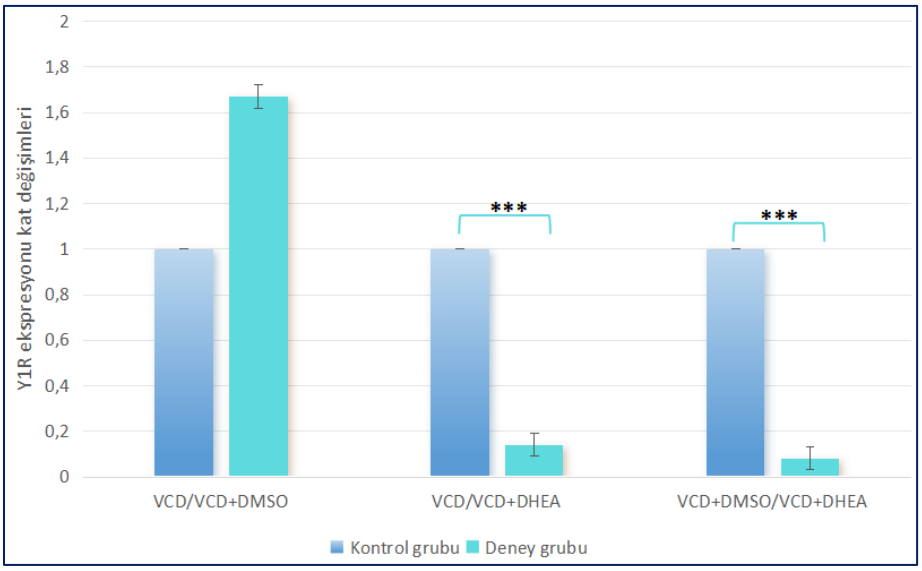
Tablo 28. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,03935 ± 0,04785	0,05237 ± 0,03489	1,63	0,31
Y1R	0,03705 ± 0,03499	0,05282 ± 0,04706	1,67	0,39
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,03935 ± 0,04785	0,00320 ± 0,00194	0,1	**0,0004**
Y1R	0,03705 ± 0,03499	0,00487 ± 0,00435	0,14	**0,008**
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,05237 ± 0,03489	0,00320 ± 0,00194	0,06	**<0,0001**
Y1R	0,05282 ± 0,04706	0,00487 ± 0,00435	0,08	**0,0006**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 33. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y gen ekspresyon değişimleri



Grafik 34. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Y1R gen ekspresyon değişimleri

4.2.6.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri

DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen Nöropeptid Y ve Y1R genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 29 ile Grafik 35 ve Grafik 36'da gösterilmiştir.

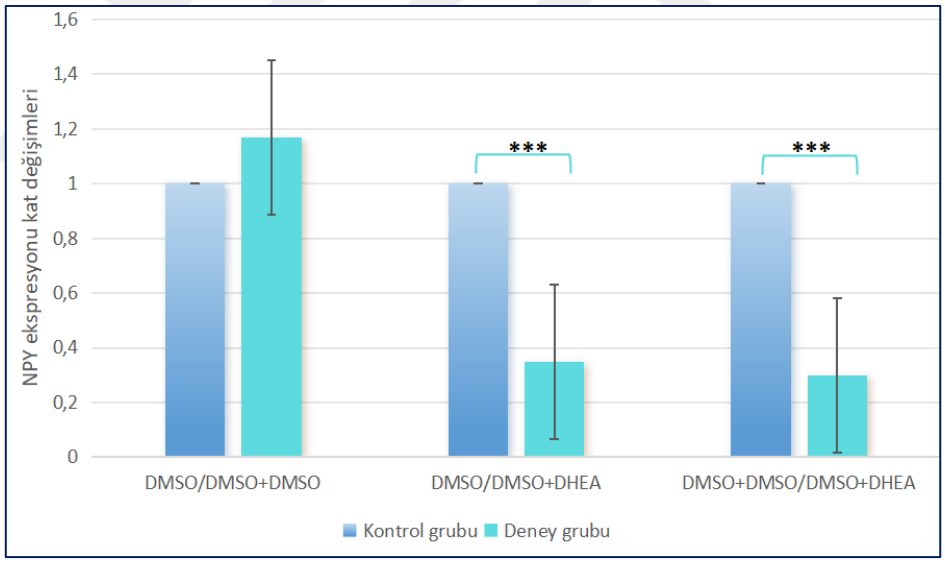
Yapılan karşılaştırmalar sonucunda DMSO+DHEA grubunda NPY seviyeleri, hem DMSO grubuna kıyasla 0,35 kat (p=0,006), hem de DMSO+DMSO grubuna göre 0,30 kat (p=0,004) anlamlı olarak azalmıştır.

Y1R gen ekspresyonunda ise gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

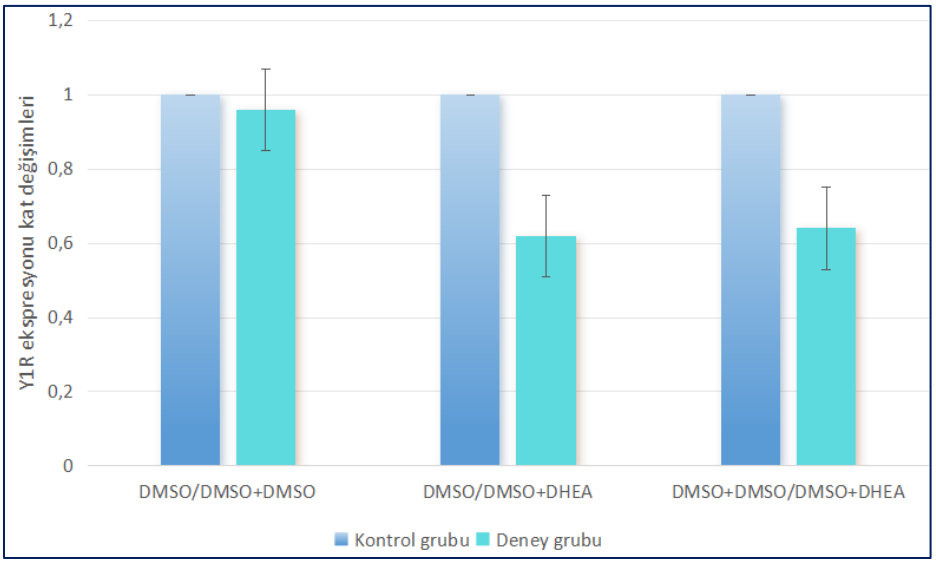
Tablo 29. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y/Y1R gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,00547 ± 0,00286	0,00650 ± 0,00267	1,17	0,60
Y1R	0,00763 ± 0,00634	0,00552 ± 0,00353	0,96	0,95
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,00547 ± 0,00286	0,00202 ± 0,00113	0,35	**0,006**
Y1R	0,00763 ± 0,00634	0,00308 ± 0,00117	0,62	0,39
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Nöropeptid Y	0,00650 ± 0,00267	0,00202 ± 0,00113	0,30	**0,004**
Y1R	0,00552 ± 0,00353	0,00308 ± 0,00117	0,64	0,21

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 35. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Nöropeptid Y gen ekspresyon değişimleri



Grafik 36. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Y1R gen ekspresyon değişimleri

4.2.7. Dinorfin ve KOR ekspresyon seviyeleri

4.2.7.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında Dinorfin ve KOR genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 30 ile Grafik 37 ve Grafik 38'de sunulmuştur.

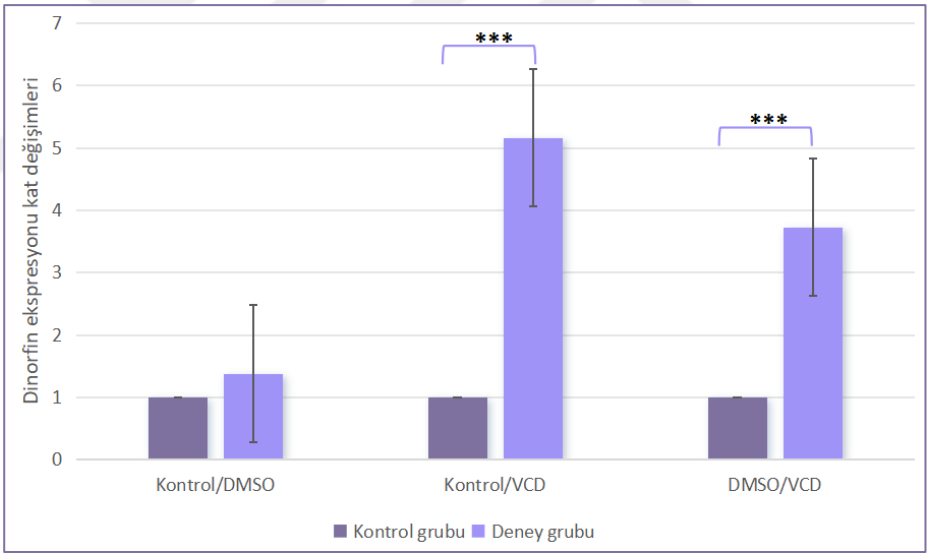
Karşılaştırma yapıldığında, VCD grubundaki dinorfin gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 5,16 kat (p=0,002) hem de DMSO grubuna kıyasla 3,73 kat (p=0,001) anlamlı olarak artış göstermiştir.

KOR geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki KOR gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 6,59 kat (p=0,004) hem de DMSO grubuna kıyasla 6,58 kat (p=0,0005) anlamlı olarak artmıştır.

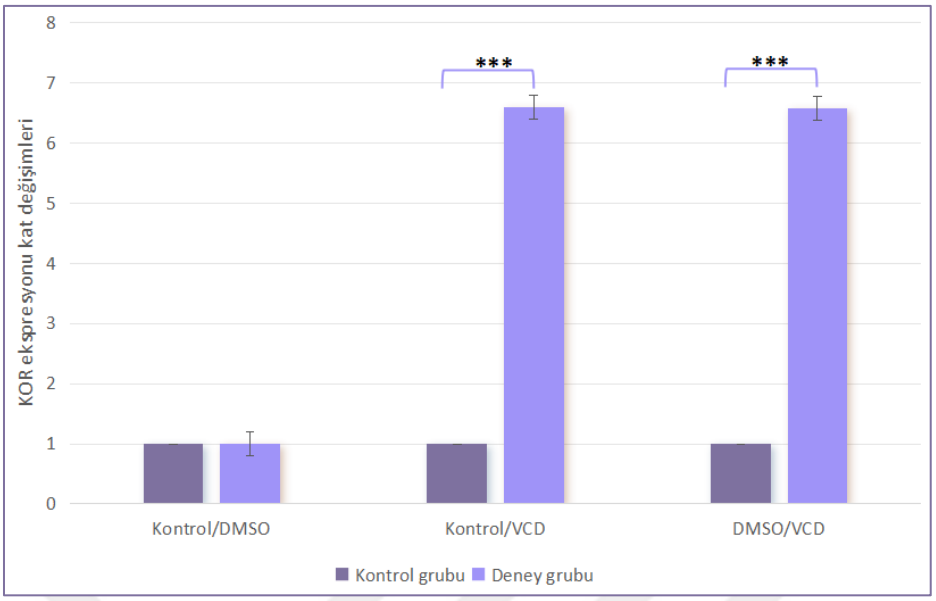
Tablo 30. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	p**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,00797 ± 0,01009	0,00830 ± 0,00531	1,38	0,44
KOR	0,00763 ± 0,00478	0,00578 ± 0,00221	1,00	0,99
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,00797 ± 0,01009	0,03109 ± 0,02244	5,16	**0,002**
KOR	0,00763 ± 0,00478	0,05096 ± 0,05698	6,59	**0,004**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,00830 ± 0,00531	0,03109 ± 0,02244	3,73	**0,001**
KOR	0,00578 ± 0,00221	0,05096 ± 0,05698	6,58	**0,0005**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 37. Kontrol, POY ve NOR deneklerin Dinorfin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 38. Kontrol, POY ve NOR deneklerin KOR gen ekspresyon değişimleri

4.2.7.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri

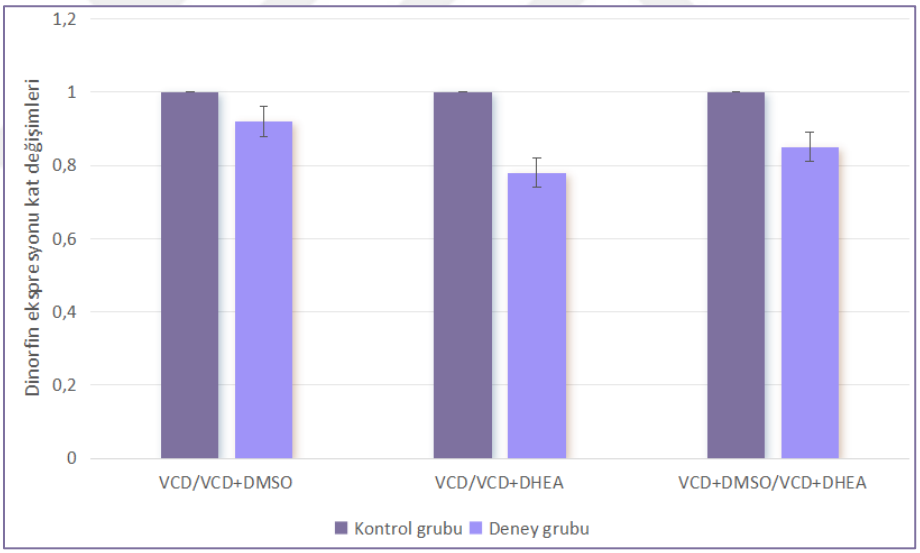
VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında Dinorfin ve KOR genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 31 ve Grafik 39 ve Grafik 40'ta sunulmuştur.

Karşılaştırmalar sonucunda, Dinorfin ve KOR gen seviyelerinde, gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

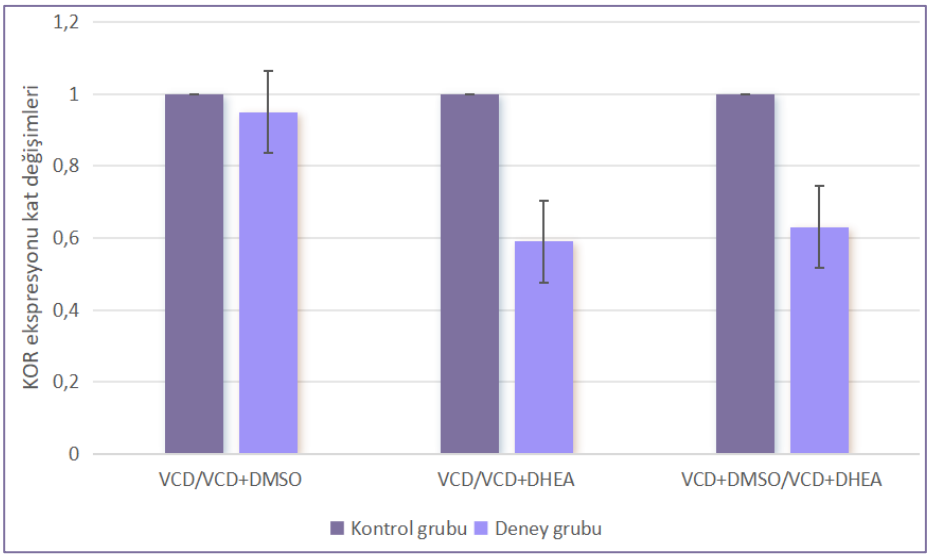
Tablo 31. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,03109 ± 0,02244	0,02820 ± 0,01622	0,92	0,79
KOR	0,05096 ± 0,05698	0,04135 ± 0,02335	0,95	0,90
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,03109 ± 0,02244	0,03586 ± 0,03677	0,78	0,62
KOR	0,05096 ± 0,05698	0,02770 ± 0,02112	0,59	0,26
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,02820 ± 0,01622	0,03586 ± 0,03677	0,85	0,74
KOR	0,04135 ± 0,02335	0,02770 ± 0,02112	0,63	0,29

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 39. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 40. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında KOR gen ekspresyon değişimleri

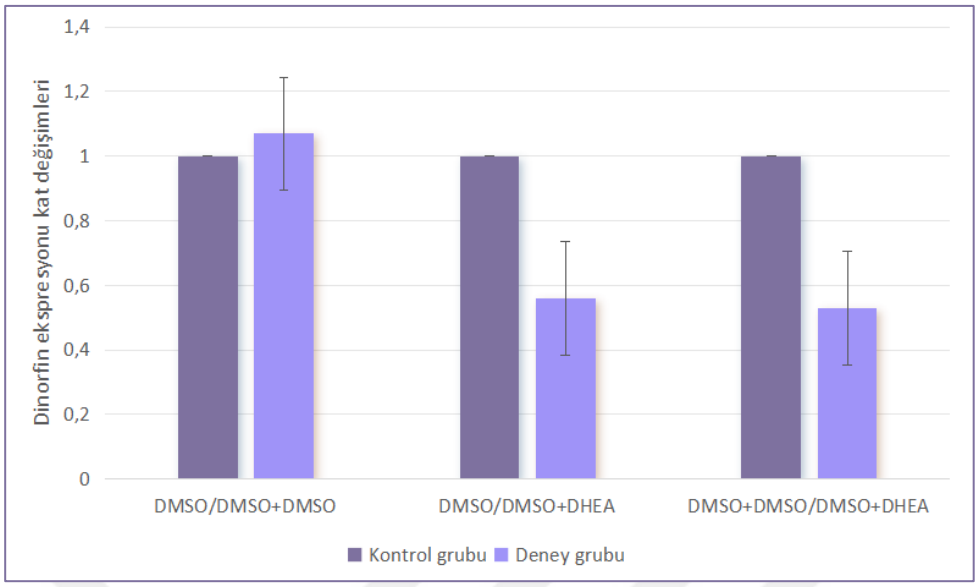
4.2.7.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri

DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen Dinorfin ve KOR genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 32 ile Grafik 41 ve Grafik 42'de gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında anlamlı düzeyde istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

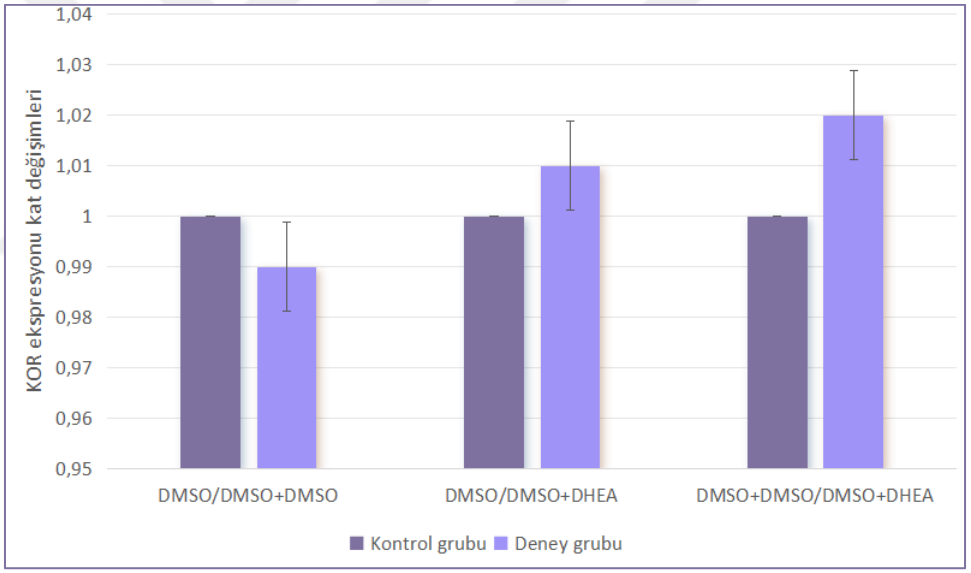
Tablo 32. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin/KOR gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		**Ekspresyon kat değişim oranı***	**P****
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,00830 ± 0,00531	0,00852 ± 0,00430	1,07	0,83
KOR	0,00578 ± 0,00221	0,00581 ± 0,00227	0,99	0,96
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,00830 ± 0,00531	0,00476 ± 0,00268	0,56	0,11
KOR	0,00578 ± 0,00221	0,00638 ± 0,00384	1,01	0,98
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
Dinorfin	0,00852 ± 0,00430	0,00476 ± 0,00268	0,53	0,07
KOR	0,00581 ± 0,00227	0,00638 ± 0,00384	1,02	0,95

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir



Grafik 41. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında Dinorfin gen ekspresyon değişimleri



Grafik 42. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında KOR gen ekspresyon değişimleri

4.2.8. RFRP ve GPR147 ekspresyon seviyeleri

4.2.8.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında RFRP ve GPR147 genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 33 ile Grafik 43 ve Grafik 44'te sunulmuştur.

Karşılaştırma yapıldığında, VCD grubundaki RFRP gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 5,30 kat (p=0,02), hem de DMSO grubuna kıyasla 5,49 kat (p=0,02)

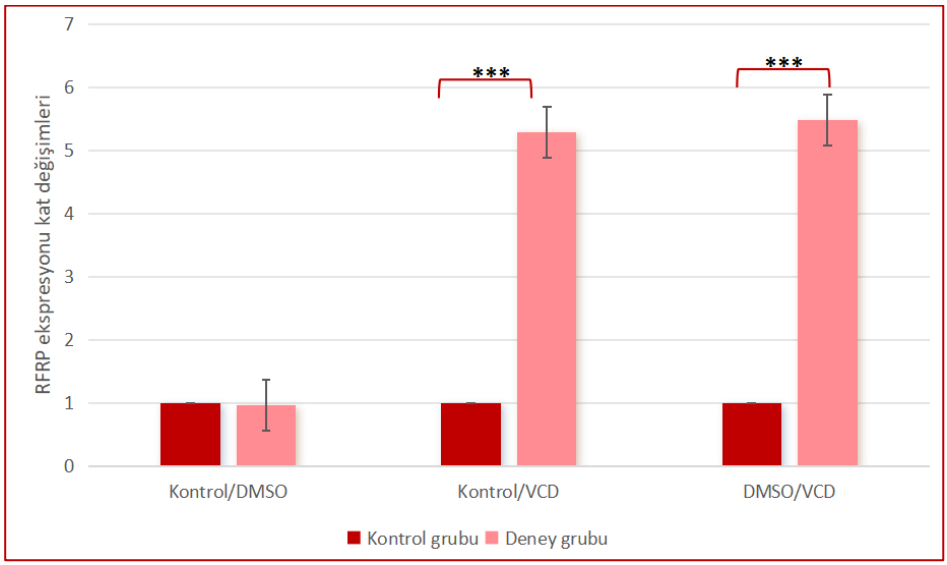
anlamlı bir artış göstermiştir.

GPR147 geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki GPR147 gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 4,55 kat (p=0,004) hem de DMSO grubuna kıyasla 6,45 kat (p=0,003) anlamlı olarak artmıştır.

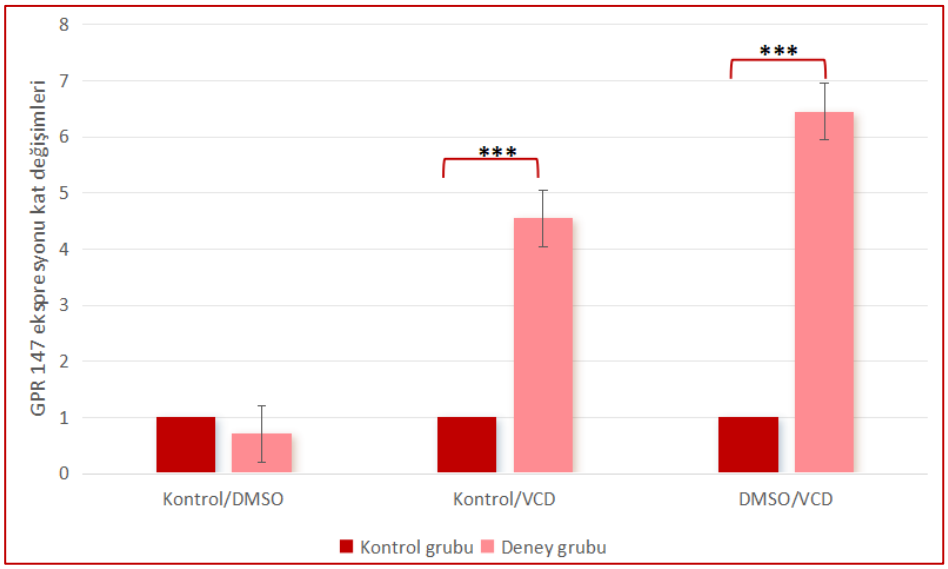
Tablo 33. Kontrol, POY ve NOR deneklerin RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		**Ekspresyon kat değişim oranı***	**P****
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,00597 ± 0,00407	0,00659 ± 0,00683	0,97	0,94
GPR147	0,00747 ± 0,00546	0,00595 ± 0,00533	0,71	0,53
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,00597 ± 0,00407	0,05195 ± 0,06369	5,30	**0,02**
GPR147	0,00747 ± 0,00546	0,02680 ± 0,01115	4,55	**0,004**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,00659 ± 0,00683	0,05195 ± 0,06369	5,49	**0,02**
GPR147	0,00595 ± 0,00533	0,02680 ± 0,01115	6,45	**0,003**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 43. Kontrol, POY ve NOR deneklerin RFRP gen ekspresyon değişimleri



Grafik 44. Kontrol, POY ve NOR deneklerin GPR147 gen ekspresyon değişimleri

4.2.8.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri

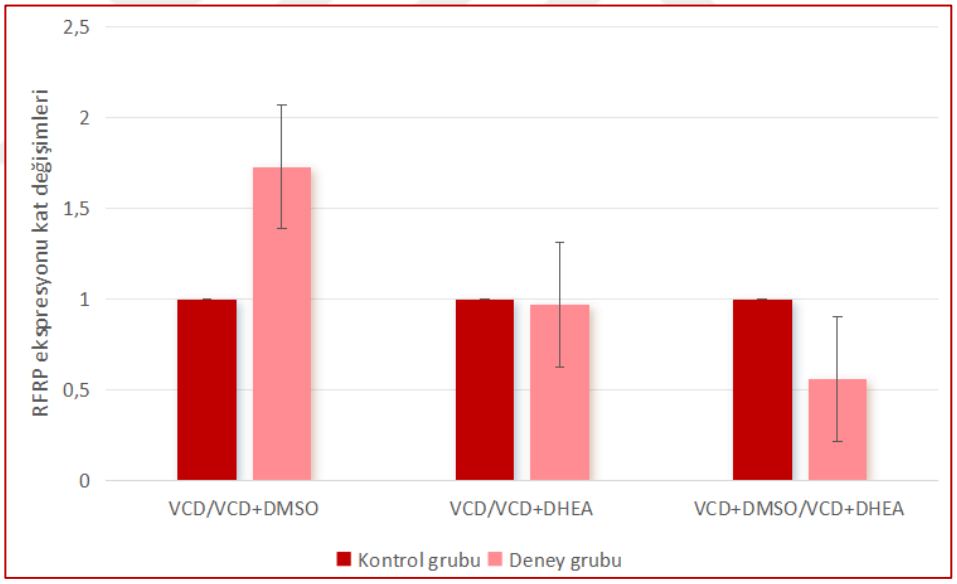
VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında RFRP ve GPR147 genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 34 ile Grafik 44 ve Grafik 45'te sunulmuştur.

Karşılaştırmalar sonucunda, RFRP ve GPR147 gen düzeylerinin gruplar arasında anlamlı olarak değişmediği bulunmuştur.

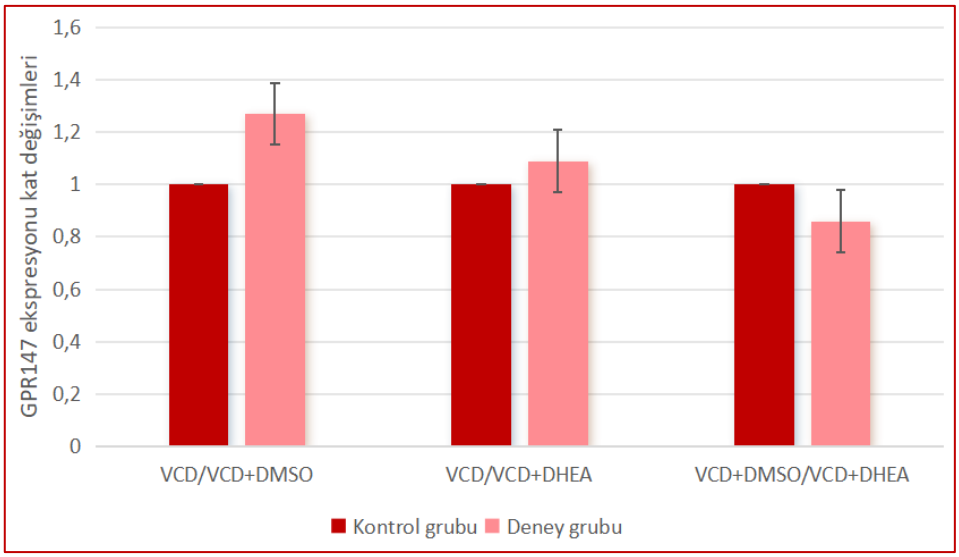
Tablo 34. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,05195 ± 0,06369	0,05653 ± 0,04743	1,73	0,36
GPR147	0,02680 ± 0,01115	0,04198 ± 0,03134	1,27	0,53
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,05195 ± 0,06369	0,02509 ± 0,00510	0,97	0,96
GPR147	0,02680 ± 0,01115	0,03200 ± 0,02100	1,09	0,78
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,05653 ± 0,04743	0,02509 ± 0,00510	0,56	0,08
GPR147	0,04198 ± 0,03134	0,03200 ± 0,02100	0,86	0,71

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 44. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP gen ekspresyon değişimleri



Grafik 45. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GPR147 gen ekspresyon değişimleri

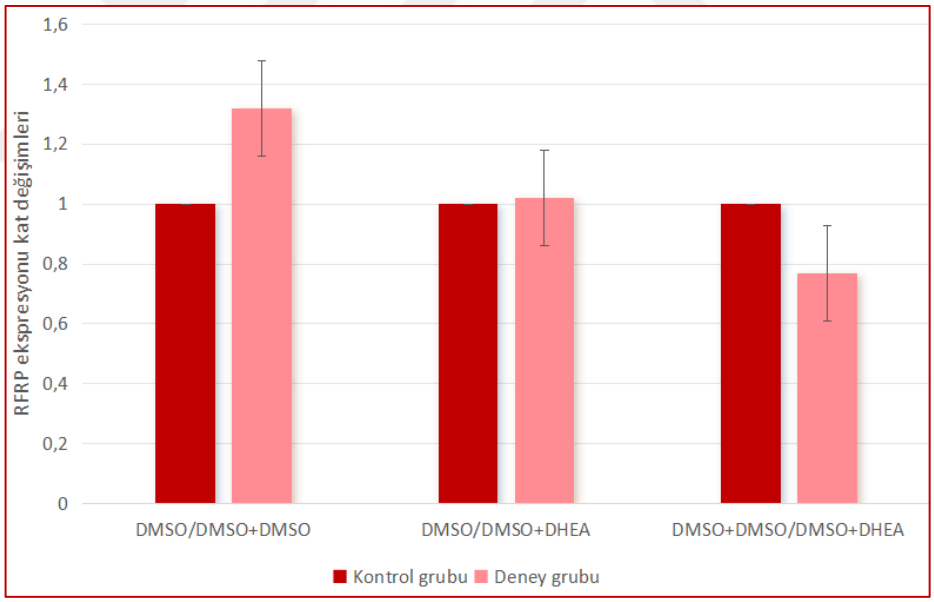
4.2.8.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri

DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen RFRP ve GPR147 genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 35 ile Grafik 46 ve Grafik 47'de gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında RFRP ve GPR147 düzeylerinde anlamlı düzeyde istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

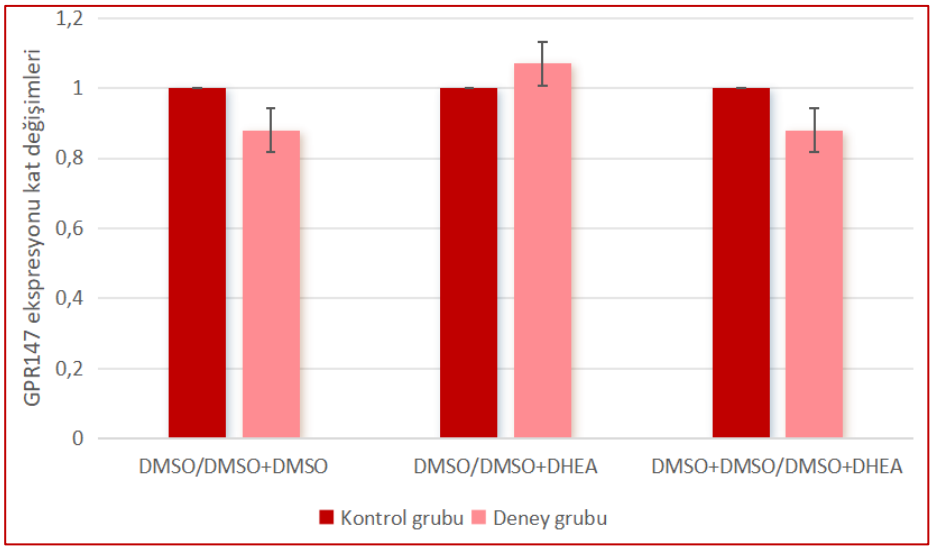
Tablo 35. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP/GPR147 gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,00659 ± 0,00683	0,00735 ± 0,00498	1,32	0,51
GPR147	0,00595 ± 0,00533	0,00644 ± 0,00542	0,88	0,78
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,00659 ± 0,00683	0,00631 ± 0,00532	1,02	0,96
GPR147	0,00595 ± 0,00533	0,00518 ± 0,00380	1,07	0,90
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
RFRP	0,00735 ± 0,00498	0,00631 ± 0,00532	0,77	0,52
GPR147	0,00644 ± 0,00542	0,00518 ± 0,00380	0,88	0,78

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, $p<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 46. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında RFRP gen ekspresyon değişimleri



Grafik 47. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GPR147 gen ekspresyon değişimleri

4.2.9. GABA ve $GABA_A$ ekspresyon seviyeleri

4.2.9.1. Kontrol, POY ve NOR deneklerin GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri

Kontrol, VCD ve DMSO gruplarındaki deneklere ait hipotalamus dokularında GABA ve $GABA_A$ genlerine yönelik ifade düzeyi analiz sonuçları Tablo 36 ile Grafik 49 ve Grafik 50'de sunulmuştur.

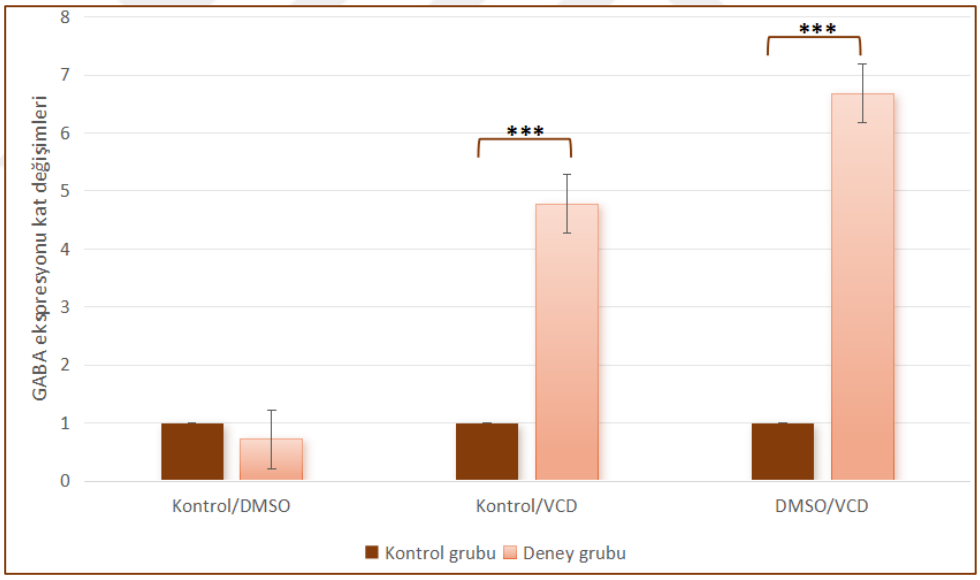
Karşılaştırma yapıldığında, Kontrol ile DMSO grupları arasında anlamlı bir fark görülmezken (p=0,36), VCD grubundaki GABA gen ifadesinin, hem kontrol grubuna göre 4,78 kat (p=0,009) hem de DMSO grubuna kıyasla 6,68 kat (p=0,003) anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir.

$GABA_A$ geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD grubundaki $GABA_A$ gen ifadesi, hem kontrol grubuna göre 6,90 kat (p=0,0001) hem de DMSO grubuna kıyasla 8,55 kat (p<0,0001) anlamlı şekilde artmıştır.

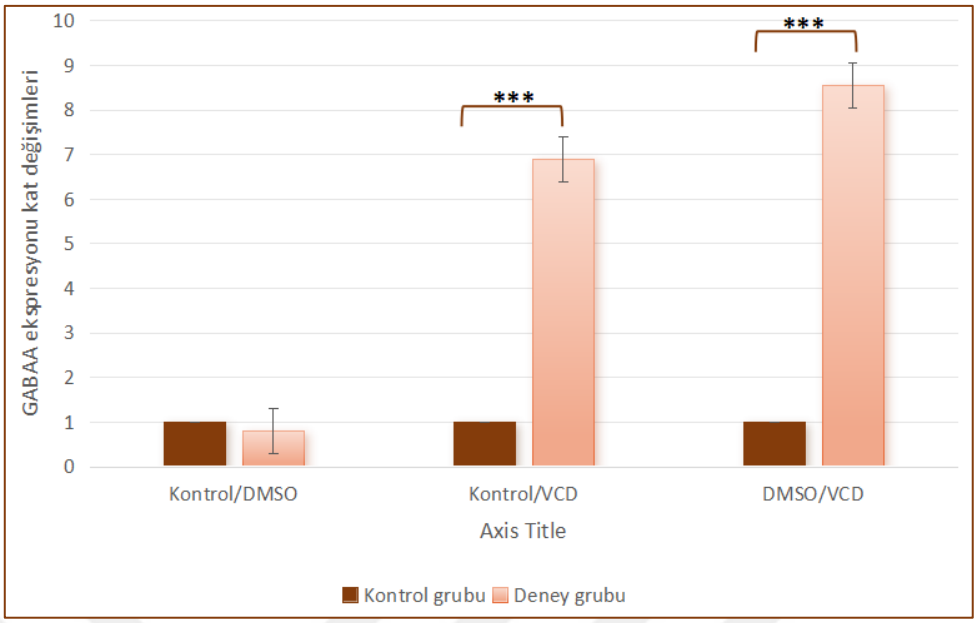
Tablo 36. Kontrol, POY ve NOR deneklerin GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	Kontrol	DMSO		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,00600 ± 0,00388	0,00444 ± 0,00351	0,72	0,36
$GABA_A$	0,00391 ± 0,00234	0,00312 ± 0,00136	0,81	0,41
	Kontrol	VCD		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,00600 ± 0,00388	0,04030 ± 0,04282	4,78	**0,009**
$GABA_A$	0,00391 ± 0,00234	0,03016 ± 0,02316	6,90	**0,0001**
	DMSO	VCD		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,00444 ± 0,00351	0,04030 ± 0,04282	6,68	**0,003**
$GABA_A$	0,00312 ± 0,00136	0,03016 ± 0,02316	8,55	**<0,0001**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 49. Kontrol, POY ve NOR deneklerin GABA gen ekspresyon değişimleri



Grafik 50. Kontrol, POY ve NOR deneklerin $GABA_A$ gen ekspresyon değişimleri

4.2.9.2. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri

VCD, VCD+DHEA ve VCD+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında GABA ve $GABA_A$ genlerine yönelik ekspresyon analiz sonuçları Tablo 37 ile Grafik 51 ve Grafik 52'de sunulmuştur.

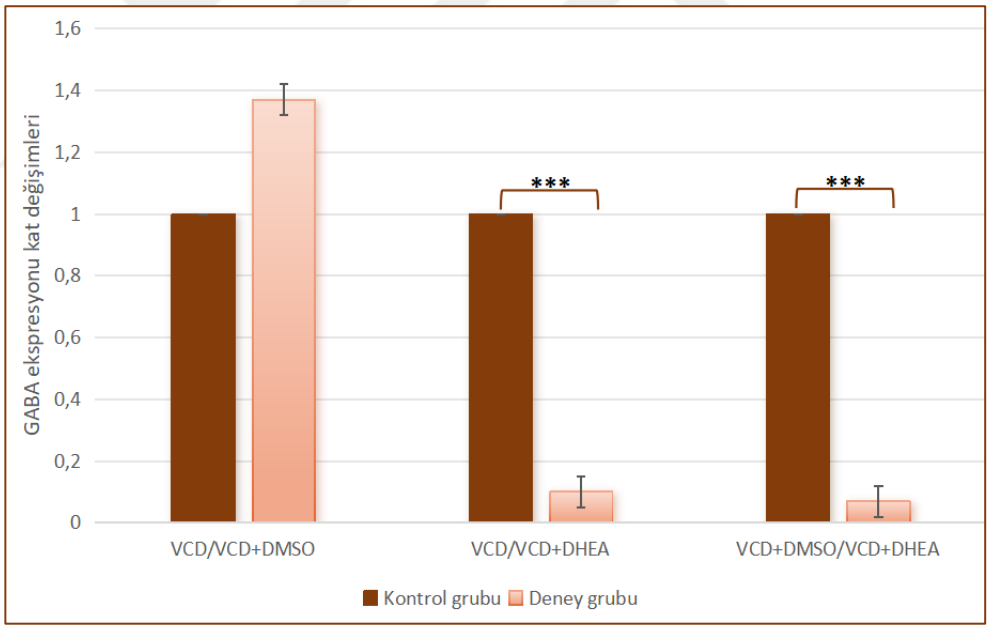
Karşılaştırmalar sonucunda, VCD+DHEA grubundaki GABA düzeyinin, hem VCD grubuna göre 0,10 kat ($p=0,0009$), hem de VCD+DMSO grubuna göre 0,07 kat ($p<0,0001$) daha düşük olduğu ve farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı.

$GABA_A$ geni için karşılaştırma yapıldığında; VCD+DHEA grubundaki $GABA_A$ gen ifadesi, hem VCD grubuna göre 0,12 kat ($p=0,0001$), hem de VCD+DMSO grubuna kıyasla 0,09 kat ($p<0,0001$) anlamlı şekilde azalmıştır.

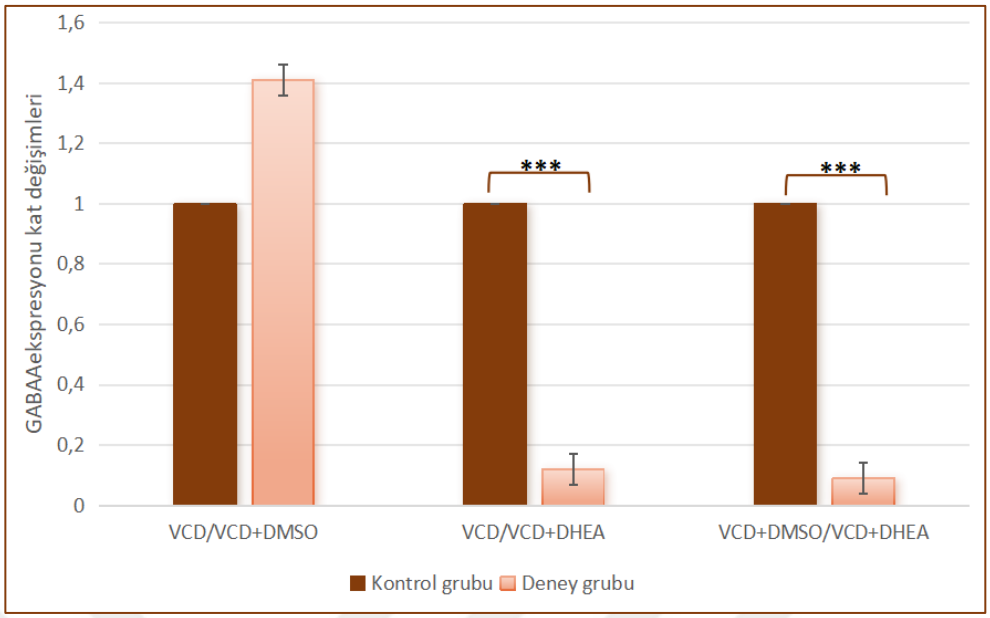
Tablo 37. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	P**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	VCD	VCD+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,04030 ± 0,04282	0,03484 ± 0,01079	1,37	0,50
$GABA_A$	0,03016 ± 0,02316	0,04120 ± 0,02764	1,41	0,37
	VCD	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,04030 ± 0,04282	0,00291 ± 0,00173	0,10	**0,0009**
$GABA_A$	0,03016 ± 0,02316	0,00365 ± 0,00267	0,12	**0,0001**
	VCD+DMSO	VCD+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,03484 ± 0,01079	0,00291 ± 0,00173	0,07	**<0,0001**
$GABA_A$	0,04120 ± 0,02764	0,00365 ± 0,00267	0,09	**<0,0001**

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, p<0,05 değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 51. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA gen ekspresyon değişimleri



Grafik 52. POY deneklerde DHEA kullanımı sonrasında $GABA_A$ gen ekspresyon değişimleri

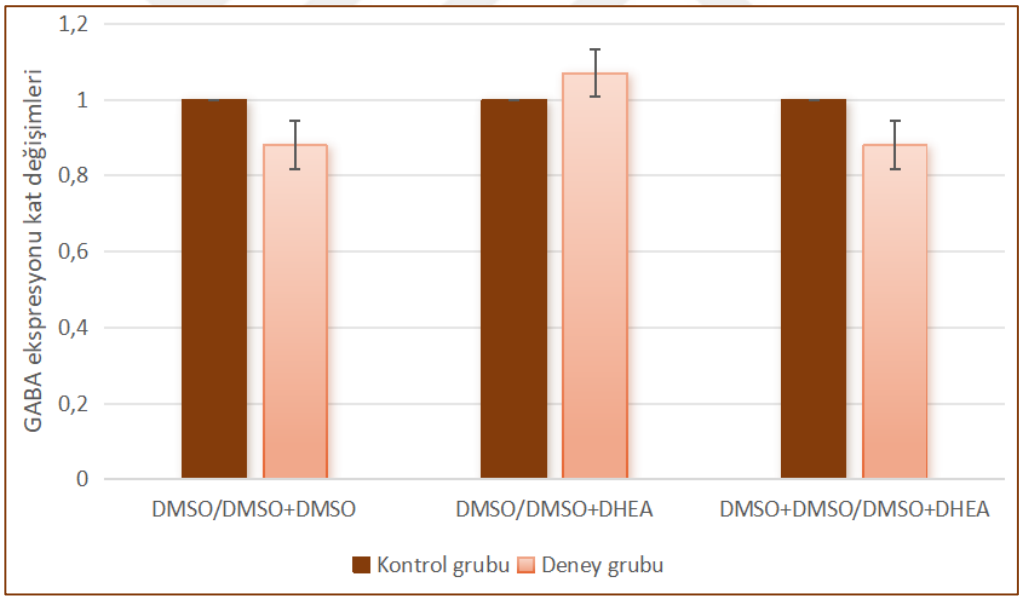
4.2.9.3. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri

DMSO, DMSO+DHEA ve DMSO+DMSO gruplarına ait hipotalamus dokularında gerçekleştirilen GABA ve $GABA_A$ genlerinin ekspresyon analizleri Tablo 38 ile Grafik 53 ve Grafik 54'te gösterilmiş olup, yapılan karşılaştırmalar sonucunda gruplar arasında anlamlı düzeyde istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

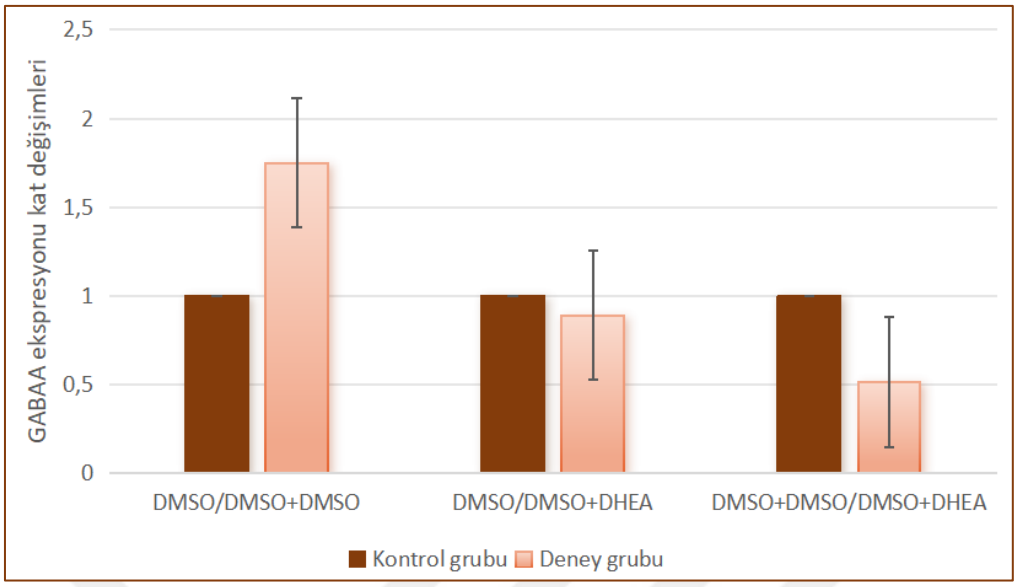
Tablo 38. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA/$GABA_A$ gen ekspresyon seviyeleri

	Ortalama $2^{-\Delta Ct}$		Ekspresyon kat değişim oranı*	p**
	Kontrol grubu	**Deney grubu**		
	DMSO	DMSO+DMSO		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,00444 ± 0,00351	0,00671 ± 0,00337	1,63	0,17
$GABA_A$	0,00312 ± 0,00136	0,00559 ± 0,00294	1,75	0,06
	DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,00444 ± 0,00351	0,00318 ± 0,00226	0,69	0,36
$GABA_A$	0,00312 ± 0,00136	0,00363 ± 0,00356	0,89	0,77
	DMSO+DMSO	DMSO+DHEA		
ACTB	1	1	1	-
GABA	0,00671 ± 0,00337	0,00318 ± 0,00226	0,42	0,05
$GABA_A$	0,00559 ± 0,00294	0,00363 ± 0,00356	0,51	0,12

*Ekspresyon kat değişim değişim oranı, deney grubundaki ekspresyonun kontrol grubuna göre kat farkını ifade eder.
**İki grup arasındaki farkın değerlendirilmesinde Student t testi uygulanmış olup, $p<0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edilmiştir.
***Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.



Grafik 53. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında GABA gen ekspresyon değişimleri



Grafik 54. NOR deneklerde DHEA kullanımı sonrasında $GABA_A$ gen ekspresyon değişimleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, 'POY modelinde, DHEA'ya yanıt olarak hipotalamusta GnRH salınımını düzenleyen peptitlerin ve reseptörlerinin ekspresyonları değişir ve bu değişiklikler, normal over rezervine ve POY'ye sahip sıçanlarda farklılık gösterir' hipotezinden yola çıkılarak, POY ve normal ovaryan rezerve sahip deneklerde DHEA'nın, hipotalamusta GnRH salınımını uyarıcı ve baskılayıcı nöropeptidlerin ve reseptörlerinin gen ekspresyon düzeyi üzerindeki etkileri değerlendirildi.

POY, hem üreme sağlığı hem de genel metabolik sağlık açısından ciddi sonuçlar doğurmaktadır (Nelson, 2009). Günümüzde POY tedavisinde kullanılan yaklaşımlar genellikle semptomları hafifletmeye ve yardımcı üreme teknikleriyle gebelik şansını artırmaya yöneliktir; ancak hastalığın temel patofizyolojisine yönelik tedavi seçenekleri sınırlıdır (Jankowska, 2017). Bu bağlamda, DHEA, son yıllarda POY tedavisinde ovaryan rezervi artırıcı etkisi ve IVF sonuçlarını iyileştirici potansiyeli ile dikkat çekmektedir (Gleicher ve ark., 2010; Wiser ve ark., 2010; Zhang ve ark., 2020). Ancak, DHEA'nın etkilerini sadece ovaryum düzeyinde değil, HPG ekseni üzerinde de gösterebileceği yönündeki bulgular henüz yeterince açıklığa kavuşmamıştır.

Çalışmamızda, sıçanlarda POY modeli oluşturmak amacıyla, primer ve primordiyal foliküllerde apoptoz sürecini tetikleyerek folikül sayısını kademeli olarak azaltan, uygulama sırasında cerrahi bir işlem veya genetik müdahale gerektirmeyen, hem in vivo hem de in vitro deneylerde etkinliği gösterilmiş olan VCD kullanılmıştır. VCD, 15 gün boyunca her gün 160 mg/kg dozunda subkutan olarak uygulanmıştır ve model oluşturmak için uygun bir ajan olarak tercih edilmiştir (Cakir ve ark., 2024; Frye ve ark., 2012; Kappeler, & Hoyer, 2012).

5.1. ELISA ile POY Modelinin Doğrulanması

Çalışmamızda serum AMH düzeyleri, VCD grubunda anlamlı olarak ($p= 0,034$) azalmıştır. Bu sonuç, VCD enjeksiyonu ile POY modelinin oluştuğunu doğrulamıştır. Aynı zamanda bu yöntemle standartlaştırılmış, tekrarlanabilir bir deneysel POY modelinin oluşturulması geçerlilik kazanmıştır.

5.2. POY Modelinin ve DHEA'nın Kisspeptin ve KISS1R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, POY modeli oluşturulan sıçanlarda hipotalamus düzeyinde Kisspeptin ve KISS1R gen ekspresyonları değerlendirilmiş ve DHEA uygulamasının bu parametreler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bulgularımız, POY modelinde hipotalamik Kisspeptin ve KISS1R düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığını; DHEA uygulamasının ise bu azalışı geri döndürdüğünü ortaya koymaktadır.

Kisspeptin, hipotalamik GnRH nöronlarının güçlü bir uyarıcısı olup, puberte başlangıcından itibaren üreme ekseninin aktivasyonunda merkezi bir role sahiptir. KISS1 geninin ekspresyonundaki azalma, GnRH salınımının baskılanmasına, dolayısıyla LH ve FSH düzeylerinin düşmesine neden olabilir (Roa ve ark., 2009). Bu bağlamda, çalışmamızda POY modeli oluşturulan (VCD grubu) sıçanlarda Kisspeptin gen ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azalması (0,29 kat, p=0,01), POY'nin HPG eksenini etkileyerek MSS düzeyinde üreme sinyalizasyonunu baskıladığını göstermektedir. Bu bulgu, POY'nin yalnızca over rezervi değil, aynı zamanda nöroendokrin düzenlemeyi de bozduğuna işaret etmektedir.

VCD uygulanan grupta KISS1 ve KISS1R genlerinin anlamlı azalışı, önceki bazı hayvan çalışmaları ile tutarlılık göstermektedir. Örneğin, Mayer ve arkadaşları, ovaryan yetmezlik benzeri durumların, kisspeptin nöron aktivitesindeki azalmaya sebep olabileceğini bildirmiştir (Mayer ve ark., 2010). Benzer şekilde, Clarkson ve Herbison, östrojen düzeylerinin azalmasıyla, kisspeptin nöronlarının aktivitesinin düşebileceğini ve bunun GnRH pulsatilitesinde bozulmaya yol açtığını belirtmiştir (Clarkson & Herbison, 2006b). Bu sonuçlar, çalışmamızda gözlenen KISS1 ve KISS1R gen düzeylerindeki azalmayla doğrudan örtüşmektedir.

Ayrıca Kwon ve arkadaşları, overektomi (OVX) uygulanan sıçanlarda serum kisspeptin seviyelerinin, östradiol tedavisinden bağımsız olarak azaldığını göstermiştir (Kwon ve ark., 2022). Çalışmamızda kullanılan ajan olan VCD, foliküllerde apoptoz ve atreziyi tetikleyerek over fonksiyonunu bozmakta ve ovaryum kaynaklı kisspeptin seviyesini azaltarak literatürle örtüşmektedir.

DHEA uygulanan VCD+DHEA grubunda Kisspeptin düzeylerinin VCD grubuna göre 17,03 kat artması ($p<0,0001$) ve bu farkın VCD+DMSO grubuna kıyasla da anlamlı şekilde yüksek olması, DHEA'nın hipotalamik Kisspeptin gen ekspresyonunu

güçlü biçimde indüklediğini göstermektedir. Bu sonuç, DHEA'nın sadece periferik over fonksiyonlarını değil, aynı zamanda merkezi nöropeptiderjik sistemi de düzenleyici etkisi olduğunu ortaya koymaktadır.

Öte yandan, normal over rezervine sahip deney grupları (DMSO, DMSO+DHEA, DMSO+DMSO) incelendiğinde, DHEA uygulamasının Kisspeptin gen ekspresyonunu artırdığı ancak bu artışın POY modelindeki kadar belirgin olmadığı gözlenmiştir. Bu durum, DHEA'nın etkisinin özellikle over yetmezliği koşullarında belirginleştiğini ve homeostatik dengeye sahip bireylerde sınırlı bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Literatürde de benzer şekilde, DHEA'nın etkilerinin özellikle düşük over rezervi veya hipogonadotropik durumlarda belirgin olduğu vurgulanmıştır (Casson, Lindsay, Pisarska, Carson, & Buster, 2000; Gleicher & Barad, 2011). Benzer şekilde Cakir ve arkadaşları, DHEA'nın sağlıklı sıçanlarda sınırlı etkisi olduğunu, ancak düşük over rezervinde iyileştirici rol üstlendiğini göstermiştir (Cakir ve ark., 2024).

DMSO+DHEA grubunda kisspeptin seviyesi anlamlı olarak artarken, KISS1R geninde anlamlı değişim gözlenmemiştir. Bu bulgunun olası sebepleri, KISS1R yanıtının farklı regülasyon yollarıyla sınırlanması ve ligand-reseptör sistemlerinde her iki komponentin eş zamanlı değişmemesi ihtimali olabilir. Bu durum, kisspeptin-KISS1R sisteminin hassas bir homeostatik denetim altında olduğunu da düşündürür.

Bazı çalışmalar, DHEA'nın nöroendokrin sistem üzerindeki etkilerinin dolaylı olabileceğini ve aromatizasyon yoluyla östrojen seviyelerini artırabileceğini göstermektedir (Tang, Chen, & Chen, 2021). Bu bağlamda, DHEA'nın direkt mi yoksa östrojen aracılığıyla mı etki gösterdiğini ayırt etmek için ER antagonistleri ile yapılacak ek deneyler faydalı olabilir.

Sonuç olarak, bu çalışma hipotalamik Kisspeptin gen ekspresyonunun POY'de anlamlı şekilde baskılandığını ve DHEA tedavisinin bu baskılanmayı güçlü biçimde tersine çevirdiğini göstermiştir. Bu bulgular, POY tedavisinde DHEA'nın potansiyel bir nöroendokrin modülatör olarak değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Ancak bu etki mekanizmasının östrojen aracılı mı yoksa doğrudan mı gerçekleştiği sorusu ileri çalışmalarda incelenmelidir.

5.3. POY Modelinin ve DHEA'nın Galanin ve GALR1 Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, POY modeli oluşturulan sıçanlarda hipotalamik Galanin ve GALR1 gen ekspresyon düzeyleri incelenmiş, ayrıca DHEA tedavisinin bu genler üzerindeki düzenleyici etkileri değerlendirilmiştir. Bulgular, POY modelinde hem Galanin hem de GALR1 gen düzeylerinin anlamlı ölçüde azaldığını, DHEA uygulamasının ise bu gen ekspresyonlarını anlamlı biçimde artırdığını göstermektedir.

Galanin, nöropeptid yapısında bir nörotransmitter olup, hipotalamus başta olmak üzere MSS'nin birçok bölgesinde ifade edilmektedir ve özellikle GnRH nöronlarıyla doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir (Merchenthaler ve ark, 1993). Galaninin, HPG ekseninin düzenlenmesinde hem doğrudan hem de dolaylı etkilerle görev aldığı; östrojen tarafından regüle edildiği; aynı zamanda puberte başlangıcı, ovulasyon ve seksüel davranışların modülasyonunda rol oynadığı çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Fang ve ark., 2015; Merchenthaler ve ark, 1993). Bu bağlamda, çalışmamızda POY modeli oluşturulan VCD grubunda Galanin gen ekspresyonunun hem kontrol (0,35 kat, p=0,02) hem de DMSO grubuna (0,43 kat, p=0,04) göre anlamlı biçimde azalması, POY'nin hipotalamik düzeyde Galanin üretimini baskıladığını göstermektedir. Bu bulgu, POY'nin yalnızca over fonksiyonlarını değil, aynı zamanda merkezi nöropeptiderjik iletiyi de bozan sistemik bir bozukluk olduğunu göstermektedir.

Galanin'in etkilerini düzenleyen GALR1 reseptörüne ait ekspresyonun da VCD grubunda anlamlı şekilde azalması (kontrole göre 0,19 kat, p=0,0009), Galanin sinyalizasyonunun POY'de hem ligand hem de reseptör düzeyinde baskılandığını ortaya koymaktadır. Bu durum, Galanin-GALR1 sisteminin üreme eksenindeki fizyolojik rolünün POY'de bozulduğuna göstermektedir. Bu durum, VCD'nin over rezervini azaltmasının ötesinde, merkezi nöropeptid düzeylerinde de dengesizliklere neden olabileceğini düşündürmektedir. Daha önce yapılan bazı deneysel çalışmalarda, OVX uygulanan hayvanlarda galanin ekspresyonunun azaldığı bildirilmiştir (Kalló ve ark., 2012), bu da çalışmamızdaki bulgularla benzerlik göstermektedir.

DHEA uygulanan VCD+DHEA grubunda ise Galanin gen ekspresyonu, VCD grubuna kıyasla 5,89 kat (p<0,0001) ve VCD+DMSO grubuna kıyasla 16,25 kat (p=0,0002) anlamlı şekilde artmıştır. Benzer biçimde, GALR1 gen ekspresyonu da

DHEA tedavisi ile hem VCD (13,72 kat, p<0,0001) hem de VCD+DMSO (13,99 kat, p=0,0001) gruplarına göre anlamlı şekilde yükselmiştir. Bu sonuçlar, DHEA'nın Galanin sistemini güçlü şekilde aktive ettiğini ve bu etkinin yalnızca nöropeptid seviyesinde değil, aynı zamanda reseptör düzeyinde de gerçekleştiğini göstermektedir. Galanin sistemi üzerindeki bu potansiyel etkisi, ilk kez bu çalışmada POY bağlamında ortaya konmuştur.

Literatürde galanin düzeylerinin östrojen ile pozitif korelasyon gösterdiği yönünde benzer bulgular bulunmaktadır. Östrojen, galanin ifadesini güçlü şekilde artırır (Cheung ve ark., 1996). Dolayısıyla DHEA'nın etkisinin, kısmen östrojenik aktivite yoluyla gerçekleştiği öne sürülebilir. DHEA, östrojen öncülü steroidlerden biri olduğu için, lokal aromatizasyon yoluyla östrojen üretimini artırarak galanin ekspresyonunu uyarmış olabilir (Labrie ve ark., 2005).

Öte yandan, literatürde galanin düzeylerinin bazı durumlarda baskılayıcı etkiler oluşturduğu da bildirilmiştir. Örneğin, bazı çalışmalar galaninin dopaminerjik inhibisyon veya prolaktin sekresyonu üzerinden geri bildirim mekanizmalarında yer aldığını göstermiştir (Robinson, & Brewer, 2008; Wynick ve ark., 1998). Ancak bu etkiler genellikle sistemik değil, lokal nörokimyasal bağlamlara özgüdür ve HPG ekseninde galaninin genel eğilimi uyarıcı yöndedir.

Ayrıca, galanin düzeylerinin nöroinflamasyon, yaşlanma, stres ve glukokortikoidler gibi faktörlerden de etkilendiği bilinmektedir (Xu, Shi, Landry, & Hökfelt, 1996). VCD ile oluşturulan POY modelinde, inflamatuvar süreçlerin de galanin düzeyini baskılamış olması olasıdır. Bu nedenle DHEA'nın bilinen antiinflamatuvar etkileri sayesinde galanin ifadesinde artış sağladığı da düşünülmelidir.

Normal over rezervine sahip DMSO deney gruplarında ise DHEA uygulaması Galanin gen ekspresyonunu anlamlı şekilde artırırken (2,84 kat, p=0,03), GALR1 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu bulgu, DHEA'nın etkisinin fizyolojik koşullarda sınırlı kaldığını, Galanin-GALR1 eksenindeki aktivasyonun özellikle hipogonadal veya düşük over rezervine sahip bireylerde belirginleştiğini göstermektedir. Bu sonuç, Gleicher ve Barad tarafından bildirilen DHEA'nın düşük over rezervine sahip olgularda daha belirgin etki gösterdiği yönündeki bulgularla da paraleldir (Gleicher & Barad, 2011).

Sonuç olarak, bu çalışma Galanin-GALR1 sisteminin POY'de baskılandığını ve DHEA tedavisiyle bu sistemin güçlü biçimde yeniden aktive edildiğini ortaya koymaktadır. Bu durum, DHEA'nın yalnızca gonadal değil, aynı zamanda merkezi nöropeptid düzeyinde de düzenleyici rol oynadığını ortaya koymaktadır. Galaninin HPG eksenindeki yeri ve bu sistemin farmakolojik olarak modüle edilebilirliği, POY gibi durumlarda yeni tedavi stratejileri geliştirilmesi açısından dikkat çekici olabilir. Ancak bu etkinin artmış östrojen aracılığıyla dolaylı olarak mı, yoksa doğrudan mı gerçekleştiğini ortaya koymak amacıyla ileri düzey mekanistik çalışmalara ihtiyaç vardır. İleriye dönük çalışmalarda, galanin sisteminin spesifik inhibitör veya agonistleri ile farmakolojik modülasyonun denenmesi ve GALR2 ve GALR3 gibi diğer galanin reseptörlerinin de gen ifadesinin değerlendirilmesi, DHEA'nın etkisinin moleküler düzeyde mekanizmasının daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

5.4. POY Modelinin ve DHEA'nın α-MSH ve MC4R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, POY modeli oluşturulan sıçanlarda hipotalamik α-MSH ve MC4R gen ekspresyonlarının belirgin şekilde azaldığı gösterilmiştir. VCD grubunda α-MSH düzeyi hem kontrol grubuna ($p=0,02$) hem de DMSO grubuna ($p=0,005$) kıyasla anlamlı şekilde düşerken, MC4R düzeyleri de benzer şekilde kontrol grubuna göre ($p=0,04$) ve DMSO grubuna göre ($p=0,02$) anlamlı olarak azalmıştır. Bu bulgular, POY modelinin hipotalamik melanokortin sistem üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Melanokortin sistemi, enerji dengesi, üreme ve davranışsal regülasyon gibi çok sayıda fizyolojik süreci düzenleyen kritik bir nöropeptid ağını temsil eder. α-MSH, POMC geninden türetilen bir peptid olup, MC4R üzerinden etkilerini gösterir. α-MSH/MC4R sinyali, GnRH üretimini uyararak HPG aksının düzenlenmesine katkı sağlar ve enerji dengesi ile nöroendokrin fonksiyonları modüle eder (Cone, 2006). Yapılan bazı çalışmalar, POMC/α-MSH sisteminin, leptin aracılığıyla GnRH nöronları üzerinde dolaylı etkiler oluşturabileceğini öne sürmektedir (Smith ve ark., 2006a). Leptin, POMC nöronlarını aktive ederek α-MSH üretimini artırabilir; bu da enerji dengesi ile üreme işlevleri arasında bağlantı kuran bir yolak olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle α-MSH düzeyindeki azalma, hipotalamik üreme sinyallerinin zayıflaması

ve POY tablosuna katkıda bulunan bir faktör olabilir.

DHEA'nın POY modelinde α-MSH ve MC4R düzeylerini artırabileceği hipotezine rağmen, elde edilen veriler bu beklentiyle tam anlamıyla örtüşmemektedir. VCD grubuna DHEA eklenen VCD+DHEA grubunda, α-MSH ve MC4R düzeylerinde anlamlı bir iyileşme görülmemiştir. Bu durum, DHEA'nın POY kaynaklı α-MSH baskılanmasını tersine çevirmede sınırlı bir etkisi olduğunu düşündürmektedir. Benzer şekilde, VCD+DMSO grubu ile karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Ancak melanokortin sistemi ile ilişkisi oldukça sınırlı olup, çalışmamızın sonuçları da bu yöndeki görüşleri desteklemektedir.

Çalışmamızda normal over rezervine sahip gruplarda DHEA'nın etkileri dikkat çekicidir. DMSO+DHEA grubunda α-MSH ifadesinde anlamlıya yakın bir artış gözlenmiştir (DMSO grubuna göre 1,83 kat; p=0,09). Bu durum, DHEA'nın fizyolojik sınırlar içinde melanokortin sistemi uyarabileceğini gösterebilir. Fakat bu artış istatistiksel olarak sınırda olup, biyolojik olarak anlamlı olsa da kesin bir yorum için daha fazla örneklem gereklidir. İlginç olarak, MC4R düzeyleri aynı grupta belirgin şekilde düşmüştür (DMSO grubuna göre 0,34 kat, p=0,02). Bu çelişkili bulgu, α-MSH sentezinin artmasına rağmen reseptör yanıtının downregülasyona uğramış olabileceğini ya da DHEA'nın MC4R üzerinde farklı regülatör mekanizmaları tetiklediğini düşündürebilir. DHEA, MC4R transkripsiyonunu dolaylı olarak inhibe eden bir transkripsiyon faktörünü aktive ediyor olabilir veya DHEA bu sistemleri farklı şekillerde etkileyerek α-MSH'ı arttırırken, MC4R düzeyini dolaylı olarak baskılıyor olabilir. Bazı araştırmalarda da MC4R mutasyonları ile anovulasyon veya adet düzensizlikleri arasında korelasyon saptanmış, ancak bu veriler çoğunlukla insan genetik çalışmaları ile sınırlı kalmıştır (Farooqi, & O'Rahilly, 2008). Bu mekanizmayı aydınlatmak için MC1R, MC2R, MC3R, MC5R gibi diğer melanokortin reseptörlerinin de araştırılması faydalı olacaktır.

Literatürde, DHEA'nın melanokortin sistemi üzerindeki etkilerine dair veriler sınırlıdır. Ancak bazı çalışmalar DHEA'nın POMC ekspresyonunu artırabileceği bildirmiştir (Givalois, Li, & Pelletier, 1999). Bununla birlikte, DHEA'nın hipotalamik MC4R düzeylerini düşürebileceği yönünde deneysel kanıt bulunmamaktadır; bu durum çalışmanızda elde edilen özgün bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Sonuç olarak, α-MSH ve MC4R gen düzeylerinin POY modeliyle anlamlı şekilde

değişmesi ancak DHEA uygulaması sonrası sabit kalması, melanokortin sisteminin bu modelde merkezi HPG ekseni düzenlenmesinde belirleyici bir rol oynamadığını düşündürmektedir. Bu sistemin özellikle leptin aracılı metabolik regülasyon ekseninde çalıştığı, üreme nöropeptidlerinden çok enerji dengesine duyarlı olduğu söylenebilir. Bu nedenle POY gibi primer olarak üreme aksını hedefleyen modellerde α-MSH ve MC4R genlerinin ekspresyon düzeyinde büyük farklılıklar beklenmemesi doğaldır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, metabolik bozukluk modelleriyle karşılaştırmalı analizler yapılması ve diğer melanokortin reseptörlerinin de araştırılması faydalı olabilir.

5.5. POY Modelinin ve DHEA'nın Leptin ve Ob-R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, POY oluşturulan sıçan modellerinde ve DHEA tedavisinin ardından hipotalamustaki Leptin ve Ob-R gen ekspresyon düzeyleri analiz edilmiştir. Leptin, enerji dengesi ve üreme fonksiyonları üzerinde merkezi etkiler gösteren bir adipokin olup, hipotalamus üzerinde doğrudan etkileri olan önemli bir nöroendokrin düzenleyicidir. Leptinin etkisi, Ob-R reseptörü aracılığıyla gerçekleşmekte olup, bu eksende meydana gelen değişimler hem metabolik hem de üreme ile ilişkili sonuçlara yol açabilmektedir. Özellikle hipotalamusta bulunan leptin reseptörleri, leptinin GnRH nöronları üzerindeki etkilerini iletmekte kritik rol oynar (Ahima & Flier, 2000). Leptin, doğrudan GnRH nöronlarında reseptöre sahip olmamakla birlikte, bu nöronlarla bağlantılı olan kisspeptin, POMC ve NPY gibi nöronlar aracılığıyla dolaylı olarak HPG eksenini düzenler (Smith ve ark, 2006a).

Araştırmamızda, VCD grubundaki Leptin gen ekspresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı (0,28 kat, p=0,007) tespit edilmiştir. Bu bulgu, POY modelinde leptin üretiminin baskılandığını göstermektedir. Ob-R ifadesinde ise VCD grubunda kontrol grubuna göre bir azalma gözlemlenmiş olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşmamıştır (p=0,08). Bu durum, over yetmezliği koşullarında hipotalamusta leptin sinyalizasyonunun hem ligand hem de reseptör düzeyinde baskılandığını, ancak reseptör düzeyindeki değişikliğin daha sınırlı olabileceğini göstermektedir.

Literatürde, leptin düzeylerinin ovaryan rezerv azaldığında genellikle dolaşımdaki östrojen seviyelerine bağlı olarak değiştiği, hipotalamik leptin sinyallerinin ise daha

stabil seyrettiği, dolaylı olarak diğer nöropeptidlerle (kisspeptin gibi) etkileşimler yoluyla GnRH salınımını düzenlediği belirtilmiştir (Tena-Sempere, 2007). Nitekim bazı çalışmalarda, over yetmezliği durumlarında hipotalamusta leptin sinyalinin baskılandığı bildirilmiştir (Hill ve ark., 2010). Bununla birlikte, bazı çalışmalar leptin sisteminin bozulmasının üreme fonksiyonlarını etkilediğini savunmaktadır. Leptin knockout (ob/ob) fare modellerinde, leptin replasmanının puberteyi başlattığı ve fertiliteyi yeniden kazandırdığı gösterilmiştir (Chehab ve ark., 1996). Çalışmamızda VCD uygulamasıyla leptin seviyelerinin baskılanması literatürle uyuşmaktadır. Çalışmamızda dikkat çeken diğer bir bulgu ise DMSO+DMSO grubundaki Leptin ekspresyonunun DMSO grubuna göre anlamlı şekilde artmış (3,59 kat, p=0,006) olmasıdır. Bu artış, DMSO'nun uzun süreli uygulamasının stres yanıtı, inflamasyon ya da metabolik değişiklikler üzerinden leptin üretimini dolaylı olarak uyarabileceğini düşündürmektedir.

Buna karşın, DMSO+DHEA grubundaki leptin ekspresyonunun DMSO+DMSO grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı (0,38 kat, p=0,02) tespit edilmiştir. Bu bulgu, DHEA'nın leptin üretimi üzerinde baskılayıcı bir etki oluşturabileceğini göstermektedir. Bu durum, DHEA'nın androjenik etkileriyle yağ dokusu üzerinde doğrudan veya dolaylı düzenleyici rol oynamasından kaynaklanabilir. Nitekim literatürde DHEA'nın plazma leptin düzeylerini azalttığını (Callies ve ark., 2001; Karbowska, & Kochan, 2013) veya leptin düzeylerini değiştirmediğini (Chen, Jin, Sun, Santos, & Kord, 2021) belirten çelişkili sonuçlar mevcuttur.

Çalışmamızda Ob-R ekspresyonunda gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmaması, leptin sinyalizasyonunun temel olarak ligand düzeyindeki değişikliklerle yürütüldüğünü; reseptör düzeyindeki düzenlemelerin ise daha durağan olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, Ob-R gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel veya translasyonel düzeyde düzenlenebileceği, dolayısıyla mRNA düzeyindeki ölçümün biyolojik aktiviteyi tam yansıtmayabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

İleride yapılacak çalışmalarda, leptin/ob-R ekspresyon düzeylerinin yanı sıra, dolaşımdaki leptin konsantrasyonlarının ve leptin duyarlılığına aracılık eden sinyal yollarının (JAK/STAT, PI3K/Akt) da değerlendirilmesi, DHEA'nın metabolik eksen üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

5.6. POY Modelinin ve DHEA'nın Glutamat ve GluA1 Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, POY modeli oluşturulan sıçanlarda DHEA uygulamasının ardından hipotalamus dokusunda glutamat ve glutamatın AMPA reseptör altbirimi olan GluA1 gen ekspresyon düzeyleri analiz edilmiştir.

Glutamat, MSS'de en yaygın uyarıcı nörotransmitter olarak görev yapmakta olup, hipotalamik işlevlerin (enerji dengesi, üreme, nöroendokrin salınım) düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Glutamat sinyal iletimi, AMPA tipi reseptörler aracılığıyla hızlı postsinaptik cevaplara neden olurken, GluA1 altbirimi bu reseptörlerin fonksiyonel bileşenlerinden biridir (Brann, & Mahesh, 1995).

Çalışmamızda VCD grubunda glutamat gen ifadesinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı (0,19 kat; p=0,003) ve benzer şekilde GluA1 gen düzeylerinin de baskılandığı (0,29 kat; p=0,01) belirlenmiştir. Bu sonuç, ovaryan rezervin tükenmesiyle birlikte hipotalamik glutamaterjik sistemin baskılandığını ortaya koymaktadır. Literatürde, östrojen düzeylerinin düşmesiyle birlikte hipotalamusta glutamat salınımının ve AMPA/NMDA reseptör aktivitesinin azaldığı bildirilmektedir (Tang ve ark., 2008). Bu bağlamda, çalışmamızdaki VCD grubunda gözlenen glutamaterjik baskılanma, POY modelinin nörokimyasal etkilerinden biri olarak değerlendirilebilir.

Önemli bir bulgu olarak, DHEA uygulaması sonrasında (VCD+DHEA grubunda), glutamat ekspresyonu VCD grubuna göre 14,4 kat (p<0,0001) artmıştır. Bu dramatik artış, DHEA'nın glutamaterjik sistem üzerinde güçlü bir uyarıcı etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuç, DHEA'nın nöronal plastisiteyi ve sinaptik iletimi destekleyen etkileriyle örtüşmektedir. Literatürde, DHEA'nın nörosteroid olarak glutamat salınımını artırdığı, sinaptik AMPA/NMDA reseptör aktivitesini güçlendirdiği ve nöronal iletişimi desteklediği belirtilmiştir (Lhullier ve ark., 2004; Maninger, Wolkowitz, Reus, Epel, & Mellon, 2009). Ayrıca, DHEA'nın NMDA reseptör modülasyonu ve glia kaynaklı glutamat salınımını artırma potansiyeli, glutamaterjik tonunun artmasına katkı sağlayabilir.

Çalışmamızda GluA1 gen ekspresyonu açısından, DHEA uygulamasına rağmen anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu bulgu, DHEA'nın glutamat üretimini ve salınımını artırmasına rağmen AMPA reseptör düzeyinde (özellikle GluA1 altbirimi)

transkripsiyonel düzeyde bir yanıt oluşturmadığını veya bunun farklı zamanlama/düzenleme mekanizmalarıyla kontrol edildiğini düşündürmektedir. Nitekim Greger ve arakadaşlarının yaptığı bir çalışmada, AMPA reseptör alt birimlerinin dinamik olarak translasyonel ve posttranslasyonel modifikasyonlarla kontrol edildiği, gen düzeyindeki ekspresyonun bu değişimleri her zaman yansıtmayabileceği vurgulanmıştır (Greger, Watson, & Cull-Candy, 2017).

DMSO gruplarında gözlenen değişikliklere bakıldığında, DMSO+DHEA grubunda glutamat ifadesinin, DMSO+DMSO grubuna göre anlamlı şekilde artmış olması (2,23 kat; p=0,03), DHEA'nın bu etkisinin VCD modelinden bağımsız olarak da sürdüğünü göstermektedir. Bu bulgu, DHEA'nın sağlıklı hipotalamik çevrede de glutamaterjik aktiviteyi desteklediğine işaret eder. Bununla birlikte, GluA1 gen düzeylerinde bu gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmaması, yukarıda belirtilen mekanizmaları destekler niteliktedir.

DMSO+DHEA grubunda glutamat ekspresyonunun, DMSO+DMSO grubuna göre artarken, DMSO grubuna göre değişmemiş görünmesinin muhtemel nedenlerinden biri, DMSO+DMSO grubunun daha homojen bir grup olma olasılığı olabilir.

Sonuç olarak, POY modelinde hem glutamat hem de GluA1 ekspresyonlarının anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. DHEA uygulaması glutamat ekspresyonunu güçlü şekilde artırmış, ancak GluA1 düzeyinde benzer bir artış gözlenmemiştir. Bu bulgular, DHEA'nın hipotalamusta nörotransmitter sistemleri üzerinde önemli etkiler oluşturabileceğini ve glutamaterjik ekseni yeniden aktive edebileceğini düşündürmektedir. Ancak reseptör düzeyinde bu etkinin daha karmaşık ve farklı düzenleme mekanizmalarına bağlı olduğu değerlendirilmelidir.

Glutamat sisteminin POY tedavisindeki potansiyel rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için, ileriki çalışmalarda NMDA alt birimleri, transporter proteinler ve glutamat metabolize eden enzimlerin de değerlendirilmesi önerilmektedir.

5.7. POY Modelinin ve DHEA'nın Nöropeptid Y ve Y1R Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, hipotalamus dokusunda NPY ve reseptörü Y1R genlerine ait ekspresyon düzeyleri, ovaryan rezervin farmakolojik olarak baskılandığı VCD modeli ve DHEA tedavisi ile birlikte değerlendirildi. Bulgular, over fonksiyon kaybını takiben

NPY ve Y1R gen ekspresyonlarında anlamlı artışlar gözlendiğini ve DHEA tedavisinin bu artışları geri çevirdiğini ortaya koymaktadır.

NPY, enerji dengesi, iştah ve özellikle üreme sisteminin merkezi düzenlenmesi açısından önemli bir nöropeptiddir (Kalra ve ark., 1992). NPY'nin, GnRH nöronları üzerindeki inhibitör etkisi bilinmekte ve bu etki özellikle Y1R reseptörü aracılığıyla gerçekleşmektedir (Pedrazzini ve ark., 2003).

VCD grubunda NPY ekspresyonunun hem kontrol (4,59 kat, p=0,004) hem de DMSO grubuna (5,15 kat, p=0,0002) kıyasla anlamlı olarak arttığı belirlendi. Benzer şekilde Y1R gen düzeyleri de VCD grubunda, kontrol (5,28 kat, p=0,01) ve DMSO grubuna (4,86 kat, p=0,04) göre artmıştır.

Östrojen, NPY ekspresyonu üzerinde baskılayıcı etki göstermektedir (Dhillon, & Belsham, 2011). Çalışmamızda da tutarlı olarak, POY modeliyle birlikte östrojenin azalmasıyla, NPY sisteminin aktive olduğu görülmektedir. Bu bulgular, östrojenin NPY ekspresyonu üzerindeki baskılayıcı etkisinin ortadan kalkmasının, NPY gen düzeyinde artışa, NPY'nin de GnRH üzerinda baskılayıcı etkiye neden olabileceğini göstermektedir. Bazı çalışmalarda, NPY sisteminin aktivasyonunun negatif enerji dengesine bağlı olduğu gösterilmiştir (Kalra ve ark., 1999). Bu durumlarda da NPY artışı GnRH salınımında baskılayıcı etki gösterebilir. Dolayısıyla, POY modeli hem hormonal hem de metabolik olarak bir stres durumu yarattığı için, bu artışın ikincil bir yanıt olabileceği de düşünülmelidir.

VCD+DHEA grubunda ise, VCD grubuna kıyasla NPY gen ekspresyonunun anlamlı biçimde 0,1 kata düştüğü (p=0,0004), Y1R ekspresyonunun ise 0,14 kat azaldığı (p=0,008) gözlemlendi. Bu durum, DHEA'nın nöropeptiderjik sistem üzerindeki östrojen benzeri etkilerini yansıtıyor olabilir.

DHEA, aromatizasyon yoluyla östrojene dönüşebildiği için, hipotalamusta NPY ve Y1R gen ekspresyonunu baskılayarak, östrojen eksikliği ile indüklenen bu artışı normalize etmiş olabilir. Bu durum, DHEA'nın ER üzerinden nöroendokrin dengeyi düzenleyici etkilerini destekleyen çalışmalarla paralellik göstermektedir (Labrie ve ark., 2005; Maninger ve ark, 2009).

DMSO+DHEA grubunda da benzer şekilde, DMSO ve DMSO+DMSO gruplarına kıyasla NPY ekspresyonunun anlamlı düzeyde azaldığı gözlenmiştir, ancak Y1R gen düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgu, DHEA'nın NPY

transkripsiyonu üzerinde güçlü bir düzenleyici etkiye sahip olabileceğini, ancak Y1R üzerindeki etkisinin daha sınırlı ya da zamanlamaya duyarlı olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızın dikkat çekici bir yönü, DHEA tedavisinin hem VCD hem de DMSO enjeksiyonu sonrasında NPY düzeylerini baskılamasıdır. Bu durum, DHEA'nın östrojenik etkilerinin sadece östrojen eksikliği durumlarında değil, fizyolojik düzeyde de NPY üzerinden belirgin etkiler gösterebildiğini düşündürmektedir.

Gelecekteki çalışmalarda, diğer NPY reseptör alt tipleri (Y2, Y5) ve GnRH nöronları ile olan doğrudan etkileşimlerin de incelenmesi önerilmektedir.

5.8. POY Modelinin ve DHEA'nın Dinorfin ve KOR Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, POY modeli oluşturulan sıçanlarda hipotalamik Dinorfin ve reseptörü KOR gen ekspresyon düzeyleri incelenmiş; ayrıca DHEA uygulamasının bu parametreler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Sonuçlarımıza göre, VCD grubunda hem Dinorfin hem de KOR gen ifadelerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Öte yandan, DHEA uygulamasının VCD veya DMSO gruplarındaki dinorfin-KOR sistemi üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı saptanmıştır.

Dinorfin, hipotalamik ARC bölgesinde koeksprese edilen KNDy nöronlarının bir parçasıdır ve GnRH pulsatilitesinin düzenlenmesinde görev alır (Goodman ve ark., 2007). Dinorfin, genellikle GnRH salınımını inhibe eden bir etki gösterir ve KOR üzerinden bu etkiyi gerçekleştirir. Östrojen düzeyleriyle yakın ilişkili olduğu düşünülen dinorfinin, negatif geri bildirim döngüsünde rol aldığı bildirilmiştir (Navarro et al., 2009).

Over yetmezliği ile karakterize edilen düşük östrojen durumlarında, bu nöronlarda dinorfin gen ekspresyonunun arttığı bilinmektedir. Bu artış, GnRH salınımının baskılanması ve dolayısıyla LH/FSH üretiminin azaltılmasıyla sonuçlanır (Lehman ve ark., 2010a). VCD grubunda görülen anlamlı artış, östrojen eksikliğine bağlı negatif geri bildirimin bir sonucu olarak yorumlanabilir. KOR ekspresyonundaki benzer şekildeki artış da, dinorfinin postsinaptik etkinliğini artırmak amacıyla reseptör düzeyinde bir kompansatuar mekanizmayı yansıtabilir (Goodman ve ark., 2007). Bu sonuçlar, östrojen eksikliği durumunda KNDy nöronları üzerinden GnRH pulsatilitesinin baskılanmasına yönelik literatürle uyumludur.

Çalışmamızda, VCD+DHEA ve DMSO+DHEA gruplarında dinorfin ve KOR gen düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır. DHEA, androjen ve östrojen öncülü bir steroid olup, aromatizasyon yoluyla östrojen üretimini artırabilir. Ancak elde edilen veriler, DHEA dozunun ya da uygulama süresinin, dinorfin-KOR sistemini etkileyecek düzeyde östrojen sentezini indüklemediğini düşündürmektedir. Bazı çalışmalarda DHEA'nın opioid sistem üzerinde nöroprotektif veya modülatör etkiler oluşturabileceği bildirilmiştir (Miziak, Chrościńska-Krawczyk, & Czuczwar, 2020). Bu etkilerin uzun dönemli ya da farklı doz rejimlerinde ortaya çıkabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bir diğer olasılık ise dinorfin sisteminin DHEA'ya dirençli olması ya da bu sistemin östrojen dışındaki başka nöroendokrin düzenleyicilere daha duyarlı olmasıdır.

Sonuçlarımız, VCD ile oluşturulan POY modelinde dinorfin-KOR sisteminin belirgin şekilde aktive olduğunu ancak bu artışın DHEA ile anlamlı şekilde geri döndürülemediğini göstermektedir. Bu bulgular, östrojen eksikliği durumunda hipotalamustaki inhibitör sinyallerin baskın hale geldiğini ancak bu mekanizmanın DHEA aracılığıyla modüle edilemediğini düşündürmektedir. Östrojenin doğrudan etkili olduğu diğer yollar (NPY veya kisspeptin nöronları gibi) DHEA'ya daha duyarlı olabilirken, dinorfin-KOR sisteminin daha dirençli veya daha uzun sürede yanıt veren bir yapıya sahip olabileceği anlaşılmaktadır.

Dinorfin sisteminin POY'deki rolü halen net değildir ve bu alanda daha fazla araştırma gereklidir. Özellikle KNDy nöronlarının dinamik yapısı, hormonal değişikliklere zamana bağlı verdiği yanıt ve nöropeptid düzeylerinde oluşabilecek post-transkripsiyonel değişiklikler de göz önünde bulundurularak, bu sistemin daha ayrıntılı incelenmesi gerekmektedir.

5.9. POY Modelinin ve DHEA'nın RFRP ve GPR147 Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

VCD ile indüklenen over yetmezliği modelinde elde ettiğimiz bulgulara göre, hipotalamik RFRP ve GPR147 gen ekspresyon seviyeleri anlamlı şekilde artış göstermiştir. Özellikle VCD grubunda RFRP gen ifadesi hem kontrol grubuna göre 5,30 kat ($p=0,02$), hem de DMSO grubuna göre 5,49 kat ($p=0,02$) anlamlı olarak artmıştır. RFRP'nin reseptörü olan GPR147 gen ekspresyonu da benzer şekilde belirgin düzeyde artmıştır.

RFRP, memelilerde GnRH nöronlarının aktivitesini baskılayarak üreme ekseninde inhibitör bir rol oynamaktadır (Tsutsui ve ark., 2010). Özellikle RFRP-3 formunun, GPR147 reseptörü üzerinden HPG aksı üzerinde negatif düzenleyici etki gösterdiği bilinmektedir (Ubuka ve ark., 2012). Bu nedenle, POY gibi hormonal dengeyi etkileyen bir modelde RFRP ekspresyonunda değişiklikler beklenebilir.

Bu doğrultuda, VCD grubunda görülen RFRP ve GPR147 artışı, östrojenin negatif geri bildirimi ortadan kalktığında, RFRP sisteminin aşırı aktive olduğunu ve GnRH salgılanmasını baskılayarak HPG aksını sekteye uğrattığını göstermektedir. Bu sonuçlar, Poling ve arkadaşları tarafından bildirilen bulgularla uyumludur; bu çalışmada da östrojen yoksunluğu sonrasında RFRP mRNA seviyelerinde artış gözlenmiştir (Poling ve ark., 2012).

Çalışmamızda DHEA uygulanan VCD ve DMSO gruplarında RFRP ve GPR147 gen ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Bu durum, DHEA'nın bu inhibitör peptid sistemi üzerinde belirgin bir düzenleyici etki göstermediğini ya da yetersiz kaldığını düşündürmektedir. Ayrıca RFRP sisteminin, glukokortikoidler ve stres gibi çevresel faktörlere duyarlılığı da bilindiğinden, DHEA uygulaması ile ilişkili olası stres etkilerinin RFRP aktivitesi üzerinde maskelenmiş bir rol oynamış olabileceği göz ardı edilmemelidir (Kirby ve ark., 2009). Ayrıca Simonneaux ve arkadaşları, farelerde yalnızca üreme hormonlarının değil; çevresel faktörlerin de (ışık, sıcaklık, zamanlama) RFRP gen ekspresyonunu etkilediğini belirtmiştir (Simonneaux, & Ancel., 2012). Benzer şekilde, Smith ve arkadaşları, RFRP ekspresyonunun mevsimsel döngülerden etkilendiğini göstermiştir (Smith ve ark., 2008). Bu sebeple deneysel zamanlama da RFRP seviyelerinde etkili olabilir.

DMSO gruplarında RFRP ve GPR147 gen düzeylerinde anlamlı bir fark saptanmamış olması ise, DMSO'nun hipotalamik düzeyde bu inhibitör aks üzerine belirgin bir etkisinin olmadığını ve deneysel model için uygun bir çözücü olduğunu göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, VCD grubunda gözlenen RFRP ve GPR147 gen ekspresyon artışları, östrojen eksikliğinin hipotalamik inhibitör sistemleri uyardığını ve bu durumun reprodüktif aksı baskılayabileceğini göstermektedir. Ancak DHEA uygulamasının bu sistemi normalize edici etkisinin olmayışı, dinorfin-KOR aksında olduğu gibi RFRP-GPR147 sisteminin de DHEA'ya karşı dirençli

olabileceğini veya daha yüksek doz/süre gerektirebileceğini düşündürmektedir.

RFRP sisteminin POY'deki rolünü daha iyi anlayabilmek için, protein düzeyinde doğrulayıcı çalışmalara, mevsim ve metabolik durum gibi çevresel değişkenlerin de hesaba katıldığı daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

5.10. POY Modelinin ve DHEA'nın GABA ve $GABA_A$ Gen Ekspresyon Düzeylerine Etkisi

Çalışmamızda, VCD ile oluşturulan POY modelinde, hipotalamus dokusunda GABA ve $GABA_A$ reseptör gen ekspresyon düzeylerinin belirgin şekilde arttığı saptanmıştır. VCD grubunda GABA ekspresyonunun kontrol grubuna göre 4,78 kat ($p=0,009$), $GABA_A$ gen düzeyinin ise 6,90 kat ($p=0,0001$) artması, östrojen yoksunluğunun GABAerjik sistem üzerinde güçlü bir aktivasyon yarattığını göstermektedir.

GABA, hipotalamusta özellikle GnRH nöronları üzerindeki inhibitör etkisiyle üreme ekseninin düzenlenmesinde kritik rol oynar. $GABA_A$ reseptörleri üzerinden yürüyen bu etki, Cl^- iyonlarının hücre içine girişini sağlayarak nöronal hiperpolarizasyon oluşturur ve GnRH salınımını baskılar (Herbison & Moenter, 2011). Bu bağlamda, VCD grubunda östradiolun azalmasıyla birlikte gözlenen GABA ve $GABA_A$ artışı, GnRH salınımının baskılanmasına ve dolayısıyla HPG aksının aktivitelerinin bozulmasına neden olabilir. Aynı zamanda bu artış, menopoz benzeri durumlarda görülen nörohormonal dengesizliklerin temelini de açıklayabilir. Bununla birlikte, literatürde bu bulgularla çelişen çalışmalar da mevcuttur. Romanò ve arkadaşları, östradiolun GABA düzeylerinin artırdığını ve bu artışın GnRH nöronlarının aktivitesini baskıladığını öne sürmüştür (Romanò ve ark., 2008). Bu farklılıklar, türler arası fizyolojik farklılıklar, östrojen eksikliğinin süresi ve kullanılan hayvan modeline bağlı olarak değişebilmektedir. Ayrıca Christian ve Moenter, oluşturdukları OVX modellerinde, östrojenin negatif feedback sırasında GnRH nöronlarına GABA iletimini azalttığını, ancak GnRH/LH dalgalanması sırasında GABA iletimini artırdığını göstermiştir. Östradiolün, bu etkileri göstermek için birden fazla GABAerjik nöron popülasyonu üzerinde etki ettiği düşünülmektedir, bu sebeple GABA seviyeleriyle ilgili çelişkili sonuçlar olasıdır (Christian, & Moenter, 2007).

Çalışmamızda VCD grubuna DHEA uygulandığında, hem GABA hem de $GABA_A$ gen ekspresyon düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığı görülmüştür. GABA

düzeyinin 0,10 katına, $GABA_A$ düzeyinin ise 0,12 katına düşmesi, DHEA'nın GABAerjik sistem üzerinde baskılayıcı bir düzenleme etkisi oluşturduğunu düşündürmektedir. DHEA, $GABA_A$ üzerinde allosterik modülatör etki gösterebilir ve reseptör düzeylerini aşağı yönlü regüle edebilir (Genud ve ark., 2006). Bu bağlamda, bulgularımız DHEA'nın GABAerjik baskıyı azaltarak üreme ekseni üzerinde uyarıcı yönde düzenleyici bir etki gösterebileceğine işaret etmektedir.

Normal over rezervine sahip gruplarda (DMSO gruplarında) GABA ve $GABA_A$ ekspresyon düzeylerinde anlamlı fark bulunmaması, over rezervinin bozulmadığı durumlarda bu sistemin stabil kaldığını ve DMSO'nun nöroendokrin etki göstermediğini desteklemektedir.

Özetle, çalışmamız GABA ve $GABA_A$ sisteminin VCD ile oluşturulan östrojen eksikliği modelinde aktif hale geldiğini, bu artışın ise DHEA tedavisiyle baskılanabileceğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, DHEA'nın östrojen benzeri etkileriyle GABAerjik sistem üzerindeki düzenleyici rolünü desteklemektedir. Ancak, bu etkinin doğrudan mı yoksa GnRH/GABA nöronları arasındaki dolaylı yollarla mı gerçekleştiği bilinmemektedir. Bu mekanizmaların daha ayrıntılı şekilde anlaşılabilmesi için, G protein bağlantılı $GABA_B$ reseptörleri de değerlendirilebilir ve GABA'nın diğer nöropeptidlerle etkileşimleri de incelenerek dolaylı etkileri belirlenebilir.

5.11. Sonuç

Çalışmamızda, VCD ile indüklenen POY modelinde, hipotalamusun nöropeptid profiline dair önemli düzeyde değişiklikler gözlemlenmiş; bu değişimlerin bir kısmının DHEA uygulaması ile geri döndürülebildiği ortaya konmuştur. POY'nin sadece over fonksiyonları ile sınırlı kalmayıp, merkezi sinir sistemi düzeyinde de nörohormonal dengenin bozulmasına yol açtığı verilerimizle desteklenmiştir.

VCD uygulaması sonrasında, GnRH salınımını doğrudan veya dolaylı olarak uyaran kisspeptin, glutamat, α-MSH ve leptin gen ekspresyonlarında anlamlı düzeyde azalmalar tespit edilmiştir. Bu azalma, üreme ekseninin baskılanmasıyla birlikte hipotalamik uyarıcı sinyallerin zayıfladığını göstermektedir. Öte yandan, GnRH sekresyonunu inhibe eden NPY, GABA, dinorfin ve RFRP nöropeptid sistemlerinde belirgin artışlar saptanması, POY'nin hipotalamik düzeyde baskılayıcı sinyalleri kuvvetlendirdiğini ortaya koymuştur.

Bu değişimlerin ışığında uygulanan DHEA tedavisinin, özellikle kisspeptin, glutamat, α-MSH, leptin, NPY ve GABA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düzeltici etkiler yarattığı görülmüştür. Bu durum, DHEA'nın yalnızca periferde değil, merkezi sinir sistemi üzerinde de nörosteroid etkileri aracılığıyla dengeleyici bir rol üstlenebileceğini düşündürmektedir. DHEA'nın, hipotalamik mikroçevredeki östrojen reseptörleri, NMDA reseptörleri ve steroid hormon sinyal yolları ile etkileşimi, bu etkilerin moleküler temelini oluşturabilir.

Bununla birlikte, DHEA uygulamasına rağmen dinorfin ve RFRP ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu peptidler, hem ağrı, stres ve enerji dengesine yanıt veren sistemlerle, hem de gonadotropin salınımını baskılayan yollarla ilişkilidir. DHEA'ya karşı bu direnç, ilgili nöropeptid sistemlerinin, glukokortikoid yanıtı, HPA aksı veya inflamatuar sitokinler gibi alternatif düzenleyici mekanizmalara daha duyarlı olabileceğine işaret etmektedir. Bu durum, DHEA'nın etkisinin bazı nöropeptidlere spesifik olduğu ve tüm hipotalamik ağı etkileyemediğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamız DHEA'nın VCD ile indüklenen hipotalamik disfonksiyon üzerinde seçici ve kısmi düzeyde düzeltici etkiler gösterebildiğini ortaya koymaktadır. GnRH eksenini destekleyen uyarıcı nöropeptidlerin regülasyonunda etkili olan DHEA, bazı inhibitör sistemlerde ise sınırlı kalmaktadır. Bu farklılığın, nöropeptidlerin reseptör yapıları, sinyal iletim mekanizmaları ve DHEA'ya duyarlılık düzeyleri gibi biyolojik özgünlüklerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Elde ettiğimiz bulgular, DHEA'nın hipotalamus düzeyinde homeostatik dengenin yeniden kurulmasında potansiyel bir ajan olabileceğini ortaya koymakta ve POY'nin tedavisinde DHEA gibi nörosteroidlerin farmakolojik olarak hedeflenebilir yeni yollar sunabileceğini göstermektedir. Bu çalışma, nöropeptid ağlarının kompleks doğasını ve DHEA'nın bu ağlar üzerindeki seçici etkisini vurgulayan literatüre özgün katkılar sunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

Aboghazleh, R., Boyajian, S. D., Atiyat, A., Udwan, M., Al-Helalat, M., & Al-Rashaideh, R. (2023). Rodent brain extraction and dissection: A comprehensive approach. *MethodsX*, *12*, 102516. https://doi.org/10.1016/j.mex.2023.102516

Agarwal, A., Aponte-Mellado, A., Premkumar, B. J., Shaman, A., & Gupta, S. (2012). The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, *10*, 49. https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-49

Agarwal, A., Gupta, S., & Sharma, R. K. (2005). Role of oxidative stress in female reproduction. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, *3*, 28. https://doi.org/10.1186/1477-7827-3-28

Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000). Leptin. *Annual review of physiology*, *62*, 413–437. https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.62.1.413.

Ahima, R. S., & Osei, S. Y. (2004). Leptin signaling. *Physiology & behavior*, *81*(2), 223–241. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.014

Ahima, R. S., Saper, C. B., Flier, J. S., & Elmquist, J. K. (2000). Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Frontiers in neuroendocrinology*, *21*(3), 263–307. https://doi.org/10.1006/frne.2000.0197

Al-Hasani, R., & Bruchas, M. R. (2011). Molecular mechanisms of opioid receptor-dependent signaling and behavior. *Anesthesiology*, *115*(6), 1363–1381. https://doi.org/10.1097/ALN.0b013e318238bba6

Armstrong, W. E. (2015). Hypothalamic supraoptic and paraventricular nuclei. In G. Paxinos (Ed.), *The rat nervous system* (4th ed., pp. 295–314). Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374245-2.00014-0

Armstrong, N., & Gouaux, E. (2000). Mechanisms for activation and antagonism of an AMPA-sensitive glutamate receptor: crystal structures of the GluR2 ligand binding core. *Neuron*, *28*(1), 165–181. https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00094-5

Atlante, A., Calissano, P., Bobba, A., Giannattasio, S., Marra, E., & Passarella, S. (2001). Glutamate neurotoxicity, oxidative stress and mitochondria. *FEBS letters*, *497*(1), 1–5. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(01)02437-1

Balland, E., Dam, J., Langlet, F., Caron, E., Steculorum, S., Messina, A., ... Prévot, V. (2014). Hypothalamic tanycytes are an ERK-gated conduit for leptin into the brain. *Cell metabolism*, *19*(2), 293–30 https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.015

Baulieu E. E. (1996). Dehydroepiandrosterone (DHEA): a fountain of youth?. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *81*(9), 3147–3151. https://doi.org/10.1210/jcem.81.9.8784058

Baxter, C.F. (1970). The Nature of γ-Aminobutyric Acid. In: Lajtha, A. (eds) *Metabolic Reactions in the Nervous System.* Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7160-5_9

Ben-Ari, Y., Gaiarsa, J. L., Tyzio, R., & Khazipov, R. (2007). GABA: a pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations. *Physiological reviews*, *87*(4), 1215–1284. https://doi.org/10.1152/physrev.00017.2006

Bentley, G. E., Jensen, J. P., Kaur, G. J., Wacker, D. W., Tsutsui, K., & Wingfield, J. C. (2006). Rapid inhibition of female sexual behavior by gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH). *Hormones and behavior*, *49*(4), 550–555. https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2005.12.005

Bettler, B., Kaupmann, K., Mosbacher, J., & Gassmann, M. (2004). Molecular structure and physiological functions of GABA(B) receptors. *Physiological reviews*, *84*(3), 835–867. https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2003

Bilban, M., Ghaffari-Tabrizi, N., Hintermann, E., Bauer, S., Molzer, S., Zoratti, C., ... Desoye, G. (2004). Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *Journal of cell science*, *117*(Pt 8), 1319–1328. https://doi.org/10.1242/jcs.00971

Boden, G., Chen, X., Mozzoli, M., & Ryan, I. (1996). Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *81*(9), 3419–3423. https://doi.org/10.1210/jcem.81.9.8784108

Bonini, J. A., Jones, K. A., Adham, N., Forray, C., Artymyshyn, R., Durkin, M. M., … Borowsky, B. (2000). Identification and characterization of two G protein-coupled receptors for neuropeptide FF. *The Journal of biological chemistry*, *275*(50), 39324–39331. https://doi.org/10.1074/jbc.M004385200

Branchek, T. A., Smith, K. E., Gerald, C., & Walker, M. W. (2000). Galanin receptor subtypes. *Trends in pharmacological sciences*, *21*(3), 109–117. https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01446-2

Brann, D. W., & Mahesh, V. B. (1997). Excitatory amino acids: evidence for a role in the control of reproduction and anterior pituitary hormone secretion. *Endocrine reviews*, *18*(5), 678–700. https://doi.org/10.1210/edrv.18.5.0311

Broberger, C., Landry, M., Wong, H., Walsh, J. N., & Hökfelt, T. (1997). Subtypes Y1 and Y2 of the neuropeptide Y receptor are respectively expressed in pro-opiomelanocortin- and neuropeptide-Y-containing neurons of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology*, *66*(6), 393–408. https://doi.org/10.1159/000127265

Brosnan, J. T., & Brosnan, M. E. (2013). Glutamate: a truly functional amino acid. *Amino acids*, *45*(3), 413–418. https://doi.org/10.1007/s00726-012-1280-4

Brown, C. H., Bains, J. S., Ludwig, M., & Stern, J. E. (2013). Physiological regulation of magnocellular neurosecretory cell activity: integration of intrinsic, local and afferent mechanisms. *Journal of neuroendocrinology*, *25*(8), 678–710. https://doi.org/10.1111/jne.12051

Brown, R. E., Imran, S. A., Ur, E., & Wilkinson, M. (2008). KiSS-1 mRNA in adipose tissue is regulated by sex hormones and food intake. *Molecular and cellular endocrinology*, *281*(1-2), 64–72. https://doi.org/10.1016/j.mce.2007.10.011

Bruchas, M. R., Land, B. B., & Chavkin, C. (2010). The dynorphin/kappa opioid system as a modulator of stress-induced and pro-addictive behaviors. *Brain research*, *1314*, 44–55. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.08.062

Butler, A. A., Kesterson, R. A., Khong, K., Cullen, M. J., Pelleymounter, M. A., Dekoning, ... Cone, R. D. (2000). A unique metabolic syndrome causes obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse. *Endocrinology*, *141*(9), 3518–3521. https://doi.org/10.1210/endo.141.9.7791

Cakir, C., Kuspinar, G., Aslan, K., Bozyigit, C., Kasapoglu, I., Dirican, M., ... Avci, B. (2024). Dehydroepiandrosterone modulates the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway to alleviate 4-vinylcyclohexene diepoxide-induced premature ovarian insufficiency in rats. *Experimental animals*, *73*(3), 319–335. https://doi.org/10.1538/expanim.23-0179

Callies, F., Fassnacht, M., van Vlijmen, J. C., Koehler, I., Huebler, D., Seibel, M. J., Arlt, W., & Allolio, B. (2001). Dehydroepiandrosterone replacement in women with adrenal insufficiency: effects on body composition, serum leptin, bone turnover, and exercise capacity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *86*(5), 1968–1972. https://doi.org/10.1210/jcem.86.5.7483

Casson, P. R., Lindsay, M. S., Pisarska, M. D., Carson, S. A., & Buster, J. E. (2000). Dehydroepiandrosterone supplementation augments ovarian stimulation in poor responders: a case series. *Human reproduction (Oxford, England)*, *15*(10), 2129–2132. https://doi.org/10.1093/humrep/15.10.2129

Castaño, J. P., Martínez-Fuentes, A. J., Gutiérrez-Pascual, E., Vaudry, H., Tena-Sempere, M., & Malagón, M. M. (2009). Intracellular signaling pathways activated by kisspeptins through GPR54: do multiple signals underlie function diversity?.*Peptides*,*30*(1),10-15. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2008.07.025

Castellano, J. M., Bentsen, A. H., Romero, M., Pineda, R., Ruiz-Pino, F., Garcia-Galiano, D., ... Tena-Sempere, M. (2010). Acute inflammation reduces kisspeptin immunoreactivity at the arcuate nucleus and decreases responsiveness to kisspeptin independently of its anorectic effects. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, *299*(1), E54–E61. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00081.2010

Castellano, J. M., Navarro, V. M., Fernández-Fernández, R., Nogueiras, R., Tovar, S., Roa, J., ... Tena-Sempere, M. (2005). Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology*, *146*(9), 3917–3925. https://doi.org/10.1210/en.2005-0337

Castellano, J. M., Navarro, V. M., Fernández-Fernández, R., Roa, J., Vigo, E., Pineda, R., ... Tena-Sempere, M. (2006). Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes*, *55*(9), 2602–2610. https://doi.org/10.2337/db05-1584

Catania, A., Gatti, S., Colombo, G., & Lipton, J. M. (2004). Targeting melanocortin receptors as a novel strategy to control inflammation. *Pharmacological reviews*, *56*(1), 1–29. https://doi.org/10.1124/pr.56.1.1

Celik, O., Celik, N., Aydin, S., Aygun, B. K., Haberal, E. T., Kuloglu, T., ... Celik, S. (2016). Ghrelin action on GnRH neurons and pituitary gonadotropes might be mediated by GnIH-GPR147 system. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, *25*(2), 121–128. https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0050

Chavkin, C., James, I. F., & Goldstein, A. (1982). Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor. *Science (New York, N.Y.)*, *215*(4531), 413–415. https://doi.org/10.1126/science.6120570

Chehab, F. F., Lim, M. E., & Lu, R. (1996). Correction of the sterility defect in ,homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nature genetics*, *12*(3), 318–320. https://doi.org/10.1038/ng0396-318

Chen, A. S., Marsh, D. J., Trumbauer, M. E., Frazier, E. G., Guan, X. M., Yu, H., … Van der Ploeg, L. H. (2000). Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass. *Nature genetics*, *26*(1), 97–102. https://doi.org/10.1038/79254

Chen, H., Jin, Z., Sun, C., Santos, H. O., & Kord Varkaneh, H. (2021). Effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation on cortisol, leptin, adiponectin, and liver enzyme levels: A systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *International journal of clinical practice*, *75*(11), e14698. https://doi.org/10.1111/ijcp.14698

Chen, R. J., & Sharma, S. (2025). GABA Receptor. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Chen, W. H., Shi, Y. C., Huang, Q. Y., Chen, J. M., Wang, Z. Y., Lin, S., & Shi, Q. Y. (2023). Potential for NPY receptor-related therapies for polycystic ovary syndrome: an updated review. *Hormones (Athens, Greece)*, *22*(3), 441–451. https://doi.org/10.1007/s42000-023-00460-8

Cheung, C. C., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (1996). Galanin: an unassuming neuropeptide moves to center stage in reproduction. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, *7*(8), 301–306. https://doi.org/10.1016/s1043-2760(96)00128-2

Childs, G. V., Odle, A. K., MacNicol, M. C., & MacNicol, A. M. (2021). The Importance of Leptin to Reproduction. *Endocrinology*, *162*(2), bqaa204. https://doi.org/10.1210/endocr/bqaa204

Chon, S. J., Umair, Z., & Yoon, M. S. (2021). Premature Ovarian Insufficiency: Past, Present, and Future. *Frontiers in cell and developmental biology*, *9*, 672890. https://doi.org/10.3389/fcell.2021.672890

Christian, C. A., & Moenter, S. M. (2007). Estradiol induces diurnal shifts in GABA transmission to gonadotropin-releasing hormone neurons to provide a neural signal for ovulation. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *27*(8), 1913–1921. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4738-06.2007

Clark, A. J., & Cammas, F. M. (1996). The ACTH receptor. *Bailliere's clinical endocrinology and metabolism*, *10*(1), 29–47. https://doi.org/10.1016/s0950-351x(96)80282-5

Clarke, I. J., Qi, Y., Puspita Sari, I., & Smith, J. T. (2009). Evidence that RF-amide related peptides are inhibitors of reproduction in mammals. *Frontiers in neuroendocrinology*, *30*(3), 371378. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.04.001

Clarke, I. J., & Pompolo, S. (2005). Synthesis and secretion of GnRH. *Animal reproduction science*, *88*(1-2), 29–55. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.05.003

Clarke, I. J., Smith, J. T., Henry, B. A., Oldfield, B. J., Stefanidis, A., Millar, R. P., ... Fraley, G. S. (2012). Gonadotropin-inhibitory hormone is a hypothalamic peptide that provides a molecular switch between reproduction and feeding. *Neuroendocrinology*, *95*(4), 305–316. https://doi.org/10.1159/000332822

Clarkson, J., & Herbison, A. E. (2006a). Development of GABA and glutamate signaling at the GnRH neuron in relation to puberty. *Molecular and cellular endocrinology*, *254-255*, 32–38. https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.04.036

Clarkson, J., & Herbison, A. E. (2006b). Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin- releasing hormone neurons. *Endocrinology*, *147*(12), 5817–5825. https://doi.org/10.1210/en.2006-0787

Clarkson, J., Han, S. Y., Piet, R., McLennan, T., Kane, G. M., Ng, J., ... Herbison, A. E. (2017). Definition of the hypothalamic GnRH pulse generator in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *114*(47), E10216–E10223. https://doi.org/10.1073/pnas.1713897114

Cone R. D. (2006). Studies on the physiological functions of the melanocortin system. *Endocrine reviews*, *27*(7), 736–749. https://doi.org/10.1210/er.2006-0034

Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., ... Bauer, T. L. (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal- weight and obese humans. *The New England journal of medicine*, *334* (5), 292–295. https://doi.org/10.1056/NEJM199602013340503

Cota, D., Proulx, K., Smith, K. A., Kozma, S. C., Thomas, G., Woods, S. C., & Seeley, R. J. (2006). Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake. *Science (New York, N.Y.)*, *312*(5775), 927–930. https://doi.org/10.1126/science.1124147

Cowley, M. A., Smart, J. L., Rubinstein, M., Cerdán, M. G., Diano, S., Horvath, T. L.,... Low, M. J. (2001). Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature*, *411*(6836), 480–484. https://doi.org/10.1038/35078085

Cowley, M. A., Smith, R. G., Diano, S., Tschöp, M., Pronchuk, N., Grove, K. L., … Horvath, T. L. (2003). The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, *37*(4), 649–661. https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00063-1

Crown, A., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2007). Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology*, *86*(3), 175– 182. https://doi.org/10.1159/000109095

Cullinan, W. E., Ziegler, D. R., & Herman, J. P. (2008). Functional role of local GABAergic influences on the HPA axis. *Brain structure & function*, *213*(1-2), 63–72. https://doi.org/10.1007/s00429-008-0192-2

Curtis, D. R., & Watkins, J. C. (1960). The excitation and depression of spinal neurones by structurally related amino acids. *Journal of neurochemistry*, *6*, 117–141. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1960.tb13458.x

Dakshinamurti, K., Paulose, C. S., Viswanathan, M., Siow, Y. L., Sharma, S. K., & Bolster, B. (1990). Neurobiology of pyridoxine. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *585*, 128–144. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1990.tb28049.x

Day, R., Lazure, C., Basak, A., Boudreault, A., Limperis, P., Dong, W., & Lindberg, I. (1998). Prodynorphin processing by proprotein convertase 2. Cleavage at single basic residues and enhanced processing in the presence of carboxypeptidase activity. *The Journal of biological chemistry*, *273*(2), 829–836. https://doi.org/10.1074/jbc.273.2.829

de Roux, N., Genin, E., Carel, J. C., Matsuda, F., Chaussain, J. L., & Milgrom, E. (2003). Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1 derived peptide receptor GPR54. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100* (19), 10972–10976. https://doi.org/10.1073/pnas.1834399100

DeFazio, R. A., Heger, S., Ojeda, S. R., & Moenter, S. M. (2002). Activation of A-type gamma-aminobutyric acid receptors excites gonadotropin-releasing hormone neurons. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)*, *16*(12), 2872–2891. https://doi.org/10.1210/me.2002-0163

Dhillon, S., Belsham, D. (2011). Estrogen inhibits NPY secretion through membrane- associated estrogen receptor (ER)-α in clonal, immortalized hypothalamic neurons. *Int J Obes* 35, 198–207 . https://doi.org/10.1038/ijo.2010.124

Di Giorgio, N. P., Bizzozzero-Hiriart, M., Libertun, C., & Lux-Lantos, V. (2019). Unraveling the connection between GABA and kisspeptin in the control of reproduction. *Reproduction (Cambridge, England)*, *157*(6), R225–R233. https://doi.org/10.1530/REP-18-0527

Ducret, E., Anderson, G. M., & Herbison, A. E. (2009). RFamide- related peptide- 3, a mammalian gonadotropin- inhibitory hormone ortholog, regulates gonadotropin- releasing hormone neuron firing in the mouse. *Endocrinology*, *150*(6), 2799–2804. https://doi.org/10.1210/en.2008-1623

Dungan Lemko, H. M., Naderi, R., Adjan, V., Jennes, L. H., Navarro, V. M., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2010). Interactions between neurotensin and GnRH neurons in the positive feedback control of GnRH/LH secretion in the mouse. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, *298*(1), E80–E88. https://doi.org/10.1152/ajpendo.00380.2009

Eberle, A. N. (1988). The melanotropins: Chemistry, physiology, and mechanisms of action. *Karger*. https://doi.org/10.1159/isbn.978-3-318-05186-5

Egbenya, D. L., Aidoo, E., & Kyei, G. (2021). Glutamate receptors in brain development. *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*, *37*(9), 2753–2758. https://doi.org/10.1007/s00381-021-05266-w

Elizondo-Vega, R., Cortes-Campos, C., Barahona, M. J., Oyarce, K. A., Carril, C. A., & García-Robles, M. A. (2015). The role of tanycytes in hypothalamic glucosensing. *Journal of cellular and molecular medicine*, *19*(7), 1471–1482. https://doi.org/10.1111/jcmm.12590

Elmquist, J. K., Coppari, R., Balthasar, N., Ichinose, M., & Lowell, B. B. (2005). Identifying hypothalamic pathways controlling food intake, body weight, and glucose homeostasis. *The Journal of comparative neurology*, *493*(1), 63–71. https://doi.org/10.1002/cne.20786

Engdahl, C., Lagerquist, M. K., Stubelius, A., Andersson, A., Studer, E., Ohlsson, C., ... Forsblad-d'Elia, H. (2014). Role of androgen and estrogen receptors for the action of dehydroepiandrosterone (DHEA). *Endocrinology*, *155*(3), 889–896. https://doi.org/10.1210/en.2013-1561

Erlander, M. G., Tillakaratne, N. J., Feldblum, S., Patel, N., & Tobin, A. J. (1991). Two genes encode distinct glutamate decarboxylases. *Neuron*, *7*(1), 91–100. https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90077-d

European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, Webber, L., Davies, M., Anderson, R., Bartlett, J., Braat, D., Cartwright, B., ... Vermeulen, N. (2016). ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Human reproduction (Oxford, England)*, *31*(5), 926–937. https://doi.org/10.1093/humrep/dew027

Eyigor, O., Lin, W., & Jennes, L. (2004). Identification of neurones in the female rat hypothalamus that express oestrogen receptor-alpha and vesicular glutamate transporter-2. *Journal of neuroendocrinology*, *16*(1), 26–31. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2004.01109.x

Faddy, M. J., & Gosden, R. G. (1996). A model conforming the decline in follicle numbers to the age of menopause in women. *Human reproduction (Oxford, England)*, *11*(7), 1484–1486. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019422

Fang, P., He, B., Shi, M., Kong, G., Dong, X., Zhu, Y., ... Zhang, Z. (2015). The regulative effect of galanin family members on link of energy metabolism and reproduction. *Peptides*, *71*, 240–249. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2015.07.007

Farooqi, I. S., & O'Rahilly, S. (2008). Mutations in ligands and receptors of the leptin- melanocortin pathway that lead to obesity. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism*, *4*(10), 569–577. https://doi.org/10.1038/ncpendmet0966

Farooqi, I. S., Jebb, S. A., Langmack, G., Lawrence, E., Cheetham, C. H., Prentice, A. M., ... O'Rahilly, S. (1999). Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *The New England journal of medicine*, *341*(12), 879–884. https://doi.org/10.1056/NEJM199909163411204

Feijing, Z., Sun, Z., Cheng, L., & Dong, Y. (2025). Leptin Modulates Ovarian Granulosa Cell Apoptosis by Regulating Telomerase Activity and Telomere Length in Polycystic Ovary Syndrome. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, *105*(2), 102169. https://doi.org/10.1016/j.labinv.2024.102169

Florey, E., & Florey, E. (1955). Microanatomy of the abdominal stretch receptors of the crayfish (Astacus fluviatilis L.). *The Journal of general physiology*, *39*(1), 69–85. https://doi.org/10.1085/jgp.39.1.69

Friedman, J. M., & Halaas, J. L. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, *395*(6704), 763–770. https://doi.org/10.1038/27376

Frye, J. B., Lukefahr, A. L., Wright, L. E., Marion, S. L., Hoyer, P. B., & Funk, J. L. (2012). Modeling perimenopause in Sprague-Dawley rats by chemical manipulation of the transition to ovarian failure. *Comparative medicine*, *62*(3), 193–202.

Galvao, J., Davis, B., Tilley, M., Normando, E., Duchen, M. R., & Cordeiro, M. F. (2014). Unexpected low-dose toxicity of the universal solvent DMSO. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *28*(3), 1317–1330. https://doi.org/10.1096/fj.13-235440

Gao, Q., & Horvath, T. (2009). Hypothalamus. In M. D. Binder, N. Hirokawa, & U. Windhorst (Eds.), *Encyclopedia of neuroscience*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-29678-2_2322

García-Cáceres, C., Quarta, C., Varela, L., Gao, Y., Gruber, T., Legutko, B., … Tschöp, M. H. (2016). Astrocytic Insulin Signaling Couples Brain Glucose Uptake with Nutrient Availability. *Cell*, *166*(4), 867–880. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.028

Gaytan, F., Garcia-Galiano, D., Dorfman, M. D., Manfredi-Lozano, M., Castellano, J. M., Dissen, G. A., ... Tena-Sempere, M. (2014). Kisspeptin receptor haplo-insufficiency causes premature ovarian failure despite preserved gonadotropin secretion. *Endocrinology*, *155*(8), 3088–3097. https://doi.org/10.1210/en.2014-1110

Geigerseder, C., Doepner, R., Thalhammer, A., Frungieri, M. B., Gamel-Didelon, K., Calandra, R. S., ... Mayerhofer, A. (2003). Evidence for a GABAergic system in rodent and human testis: local GABA production and GABA receptors. *Neuroendocrinology*, *77*(5), 314–323. https://doi.org/10.1159/000070897

Genud, R., Merenlender, A., Gispan-Herman, I., Maayan, R., Weizman, A., & Yadid, G. (2009). DHEA lessens depressive-like behavior via GABA-ergic modulation of the mesolimbic system. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *34*(3), 577–584. https://doi.org/10.1038/npp.2008.46

Gispen, W. H. (2000). Nobelprijs Fysiologie of Geneeskunde 2000 voor onderzoek van de signaaltransductie in het zenuwstelsel [Nobel prize in physiology or medicine for year 2000 for research of signal transduction in the nervous system]. *Nederlands Tijdschrift voor Geneeskunde*, *144*(46), 2184–2187.

Giuliani, D., Ottani, A., Altavilla, D., Bazzani, C., Squadrito, F., & Guarini, S. (2010). Melanocortins and the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Advances in experimental medicine and biology*, *681*, 71–87. https://doi.org/10.1007/978- 1-4419-6354-3_6

Givalois, L., Li, S., & Pelletier, G. (1999). Effects of ageing and dehydroepiandrosterone administration on pro-opiomelanocortin mRNA expression in the anterior and intermediate lobes of the rat pituitary. *Journal of neuroendocrinology*, *11*(9), 737–742. https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.1999.00392.x

Gleicher, N., & Barad, D. H. (2011). Dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation in diminished ovarian reserve (DOR). *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, *9*, 67. https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-67

Gleicher, N., Weghofer, A., & Barad, D. H. (2010). Improvement in diminished ovarian reserve after dehydroepiandrosterone supplementation.*Reproductive biomedicine online*, *21*(3), 360–365. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2010.04.006

Glickstein, M., & Doron, K. (2008). Cerebellum: connections and functions. *Cerebellum (London, England)*, *7*(4), 589–594. https://doi.org/10.1007/s12311-008-0074-4

Goldstein, A., Tachibana, S., Lowney, L. I., Hunkapiller, M., & Hood, L. (1979). Dynorphin- (1-13), an extraordinarily potent opioid peptide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *76*(12), 6666– 6670. https://doi.org/10.1073/pnas.76.12.6666

Goodman, R. L., Lehman, M. N., Smith, J. T., Coolen, L. M., de Oliveira, C. V., Jafarzadehshirazi, M. R., ... Clarke, I. J. (2007). Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus of the ewe express both dynorphin A and neurokinin B. *Endocrinology*, *148* (12), 5752–5760. https://doi.org/10.1210/en.2007-0961

Gospodarska, E., Kozak, L. P., & Jaroslawska, J. (2019). Isolation and identification of endogenous RFamide- related peptides 1 and 3 in the mouse hypothalamus. *Journal of neuroendocrinology*, *31*(1), e12668. https://doi.org/10.1111/jne.12668

Goswami, D., & Conway, G. S. (2005). Premature ovarian failure. *Human reproduction update*, *11*(4), 391–410. https://doi.org/10.1093/humupd/dmi012

Gotlieb, N., Wilsterman, K., Finn, S. L., Browne, M. F., Bever, S. R., Iwakoshi-Ukena, E., ... Kriegsfeld, L. J. (2022). Impact of Chronic Prenatal Stress on Maternal Neuroendocrine Function and Embryo and Placenta Development During Early-to-Mid-Pregnancy in Mice. *Frontiers in physiology*, *13*, 886298. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.886298

Gottsch, M. L., Cunningham, M. J., Smith, J. T., Popa, S. M., Acohido, B. V., Crowley, W. F., ... Steiner, R. A. (2004). A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology*, *145*(9), 4073–4077. https://doi.org/10.1210/en.2004-0431

Greger, I. H., Watson, J. F., & Cull-Candy, S. G. (2017). Structural and Functional Architecture of AMPA-Type Glutamate Receptors and Their Auxiliary Proteins. *Neuron*, *94*(4), 713–730. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.009

Griffin, G. D., & Flanagan-Cato, L. M. (2011). Ovarian hormone action in the hypothalamic ventromedial nucleus: remodelling to regulate reproduction. *Journal of neuroendocrinology*, *23*(6), 465–471. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02143.x

Grunfeld, C., Zhao, C., Fuller, J., Pollack, A., Moser, A., Friedman, J., & Feingold, K. R. (1996). Endotoxin and cytokines induce expression of leptin, the ob gene product, in hamsters. *The Journal of clinical investigation*, *97*(9), 2152–2157. https://doi.org/10.1172/JCI118653

Gu, M., Wang, Y., & Yu, Y. (2024). Ovarian fibrosis: molecular mechanisms and potential therapeutic targets. *Journal of ovarian research*, *17*(1), 139. https://doi.org/10.1186/s13048-024-01448-7

Guzelkas, I., Orbak, Z., Doneray, H., Ozturk, N., & Sagsoz, N. (2022). Serum kisspeptin, leptin, neuropeptide Y, and neurokinin B levels in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*, *35*(4), 481–487. https://doi.org/10.1515/jpem-2021-0487

Hamamah, S., Hajnal, A., & Covasa, M. (2024). Influence of Bariatric Surgery on Gut Microbiota Composition and Its Implication on Brain and Peripheral Targets. *Nutrients*, *16*(7), 1071. https://doi.org/10.3390/nu16071071

Han, Y., Xia, G., & Wu, Q. (2018). Functional Interrogation of the AgRP Neural Circuits in Control of Appetite, Body Weight, and Behaviors. *Advances in experimental medicine and biology*, *1090*, 1–16. https://doi.org/10.1007/978-981-13-1286-11

Hassa, H., Aydin, Y., Ozatik, O., Erol, K., & Ozatik, Y. (2015). Effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on follicular dynamics in a diminished ovarian reserve in vivo model. *Systems biology in reproductive medicine*, *61*(3), 117–121. https://doi.org/10.3109/19396368.2015.1011353

Hastings, M. H., Maywood, E. S., & Brancaccio, M. (2018). Generation of circadian rhythms in the suprachiasmatic nucleus. *Nature reviews. Neuroscience*, *19*(8), 453–469. https://doi.org/10.1038/s41583-018-0026-z

Hayashi, T. (1954). Effects of sodium glutamate on the nervous system. *Keio Journal of Medicine*, *3*, 192–193.

Henson, M. C., & Castracane, V. D. (2006). Leptin in pregnancy: an update. *Biology of reproduction*, *74*(2), 218–229 https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.045120

Herbison A. E. (2016). Control of puberty onset and fertility by gonadotropin releasing hormone neurons. *Nature reviews. Endocrinology*, *12*(8), 452–466. https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.70

Herbison, A. E., & Moenter, S. M. (2011). Depolarising and hyperpolarising actions of GABA(A) receptor activation on gonadotrophin- releasing hormone neurones: towards an emerging consensus. *Journal of neuroendocrinology*, *23*(7),557–569. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02145.x

Hileman, S. M., Pierroz, D. D., Masuzaki, H., Bjørbaek, C., El-Haschimi, K., Banks, W. A., & Flier, J. S. (2002). Characterizaton of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. *Endocrinology*, *143*(3), 775–783. https://doi.org/10.1210/endo.143.3.8669

Hill, J. W., Williams, K. W., Ye, C., Luo, J., Balthasar, N., Coppari, R., ... Elmquist, J. K. (2008). Acute effects of leptin require PI3K signaling in hypothalamic proopiomelanocortin neurons in mice. *The Journal of clinical investigation*, *118*(5), 1796–1805. https://doi.org/10.1172/JCI32964

Hill, J. W., Elias, C. F., Fukuda, M., Williams, K. W., Berglund, E. D., Holland, W. L., ... Elmquist, J. K. (2010). Direct insulin and leptin action on pro-opiomelanocortin neurons is required for normal glucose homeostasis and fertility. *Cell metabolism*, *11*(4), 286–297. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.03.002

Hinuma, S., Shintani, Y., Fukusumi, S., Iijima, N., Matsumoto, Y., Hosoya, M., … Fujino, M. (2000). New neuropeptides containing carboxy-terminal RFamide and their receptor in mammals. *Nature cell biology*, *2*(10), 703–708. https://doi.org/10.1038/35036326

Hollmann, M., & Heinemann, S. (1994). Cloned glutamate receptors. *Annual review of neuroscience*, *17*, 31–108. https://doi.org/10.1146/annurev.ne.17.030194.000335

Holmes, A., Kinney, J. W., Wrenn, C. C., Li, Q., Yang, R. J., Ma, L., ... Crawley, J. N. (2003). Galanin GAL-R1 receptor null mutant mice display increased anxiety- like behavior specific to the elevated plus-maze. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *28*(6), 1031–1044. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300164

Horton, R. J., Francis, H., & Clarke, I. J. (1989). Seasonal and steroid-dependent effects on the modulation of LH secretion in the ewe by intracerebroventricularly administered beta-endorphin or naloxone. *The Journal of endocrinology*, *122*(2), 509–517. https://doi.org/10.1677/joe.0.1220509

Howard, J. K., Cave, B. J., Oksanen, L. J., Tzameli, I., Bjørbaek, C., & Flier, J. S. (2004). Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3. *Nature medicine*, *10*(7), 734–738. https://doi.org/10.1038/nm1072

Huang, Y., Liu, Q., Huang, G., Wen, J., & Chen, G. (2022). Hypothalamic Kisspeptin Neurons Regulates Energy Metabolism and Reproduction Under Chronic Stress. *Frontiers in endocrinology*, *13*, 844397. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.844397

Huganir, R. L., & Nicoll, R. A. (2013). AMPARs and synaptic plasticity: the last 25 years. *Neuron*, *80*(3), 704–717. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.025

Hussein, R. A., Fahad, N. S., & Kredy, H. M. (2021). Estimation of kisspeptin hormone in the serum of women with premature ovarian insufficiency. *Biochemical and Cellular Archives*, 21, 5199–5204. DocID: https://connectjournals.com/03896.2021.21.5199

Huszar, D., Lynch, C. A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J. H., Fang, Q., Berkemeier, L. R., ... Lee, F. (1997). Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*, *88*(1), 131–141. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81865-6

Ingalls, A. M., Dickie, M. M., & Snell, G. D. (1950). Obese, a new mutation in the house mouse. *The Journal of heredity*, *41*(12), 317–318. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a106073

Iorizzo, M., Paventi, G., & Di Martino, C. (2023). Biosynthesis of Gamma-Aminobutyric Acid (GABA) by *Lactiplantibacillus plantarum* in Fermented Food Production. *Current issues in molecular biology*, *46*(1), 200–220. https://doi.org/10.3390/cimb46010015

Jankowska K. (2017). Premature ovarian failure. *Przeglad menopauzalny Menopause review*, *16*(2), 51–56. https://doi.org/10.5114/pm.2017.68592

Jayasena, C. N., Abbara, A., Comninos, A. N., Nijher, G. M., Christopoulos, G., Narayanaswamy, S., ... Dhillo, W. S. (2014). Kisspeptin-54 triggers egg maturation in women undergoing in vitro fertilization. *The Journal of clinical investigation*, *124*(8), 3667–3677. https://doi.org/10.1172/JCI75730

Jiao, X., Meng, T., Zhai, Y., Zhao, L., Luo, W., Liu, P., & Qin, Y. (2021). Ovarian Reserve Markers in Premature Ovarian Insufficiency: Within Different Clinical Stages and Different Etiologies. *Frontiers in endocrinology*, *12*, 601752. https://doi.org/10.3389/fendo.2021.601752

Jockenhövel, F., Blum, W. F., Vogel, E., Englaro, P., Müller-Wieland, D., Reinwein, ... Krone, W. (1997). Testosterone substitution normalizes elevated serum leptin levels in hypogonadal men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *82*(8), 2510–2513. https://doi.org/10.1210/jcem.82.8.4174

Kafa, İ. M., & Eyigör, Ö. (2011). Kisspeptins and kisspeptin neurons: Effects on reproductive system and hypothalamic localizations. *Uludağ Tıp Dergisi*, *37*(1), 53–60.

Kalló, I., Vida, B., Deli, L., Molnár, C. S., Hrabovszky, E., Caraty, A., ... Liposits, Z. (2012). Co-localisation of kisspeptin with galanin or neurokinin B in afferents to mouse GnRH neurones. *Journal of neuroendocrinology*, *24*(3), 464–476. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2011.02262.x

Kalra, S. P., Dube, M. G., Pu, S., Xu, B., Horvath, T. L., & Kalra, P. S. (1999). Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrine reviews*, *20*(1), 68–100. https://doi.org/10.1210/edrv.20.1.0357

Kandel, E. R., Koester, J. D., Mack, S. H., & Siegelbaum, S. A. (Eds.). (2021). The brain and behavior. In *Principles of Neural Science* (6th ed.). McGraw Hill. Retrieved April 15, 2025, from https://neurology.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3024&sectionid=254327521

Kappeler, C. J., & Hoyer, P. B. (2012). 4-vinylcyclohexene diepoxide: a model chemical for ovotoxicity. *Systems biology in reproductive medicine*, *58*(1), 57–62. https://doi.org/10.3109/19396368.2011.648820

Karbowska, J., & Kochan, Z. (2013). Effects of DHEA on metabolic and endocrine functions of adipose tissue. *Hormone molecular biology and clinical investigation*, *14*(2), 65–74. https://doi.org/10.1515/hmbci-2013-0009

King B. M. (2006). The rise, fall, and resurrection of the ventromedial hypothalamus in the regulation of feeding behavior and body weight. *Physiology & behavior*, *87*(2), 221–244. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.10.007

Kirby, E. D., Geraghty, A. C., Ubuka, T., Bentley, G. E., & Kaufer, D. (2009). Stress increases putative gonadotropin inhibitory hormone and decreases luteinizing hormone in male rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(27), 11324–11329. https://doi.org/10.1073/pnas.0901176106

Kirmizi, D. A., Baser, E., Okan, A., Kara, M., Yalvac, E. S., & Doganyigit, Z. (2021). The effect of a natural molecule in ovary ischemia reperfusion damage: does lycopene protect ovary?. *Experimental animals*, *70*(1), 37–44. https://doi.org/10.1538/expanim.20-0080

Kohno, D., Gao, H. Z., Muroya, S., Kikuyama, S., & Yada, T. (2003). Ghrelin directly interacts with neuropeptide-Y-containing neurons in the rat arcuate nucleus: Ca2+ signaling via protein kinase A and N-type channel-dependent mechanisms and cross-talk with leptin and orexin. *Diabetes*, *52*(4), 948–956. https://doi.org/10.2337/diabetes.52.4.948

Kolaczynski, J. W., Nyce, M. R., Considine, R. V., Boden, G., Nolan, J. J., Henry, R., ... Caro, J. F. (1996). Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans: Studies in vivo and in vitro. *Diabetes*, *45*(5), 699–701. https://doi.org/10.2337/diab.45.5.699

Körner, M., Waser, B., Thalmann, G. N., & Reubii, J. C. (2011). High expression of NPY receptors in the human testis. *Molecular and cellular endocrinology*, *337*(1-2), 62–70. https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.01.021

Kotani, M., Detheux, M., Vandenbogaerde, A., Communi, D., Vanderwinden, J. M., Le Poul, E., ... Parmentier, M. (2001). The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *The Journal of biological chemistry*, *276*(37), 34631–34636. https://doi.org/10.1074/jbc.M104847200

Kriegsfeld, L. J., Gibson, E. M., Williams, W. P., Zhao, S., Mason, A. O., Bentley, G. E., & Tsutsui, K. (2010). The roles of RFamide-related peptide-3 in mammalian reproductive function and behaviour. *Journal of neuroendocrinology*, *22*(7), 692–700. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02031.x

Kroboth, P. D., Salek, F. S., Pittenger, A. L., Fabian, T. J., & Frye, R. F. (1999). DHEA and DHEA-S: a review. *Journal of clinical pharmacology*, *39*(4), 327– 348. https://doi.org/10.1177/00912709922007903

Kuffler, S. W., & Edwards, C. (1958). Mechanism of gamma aminobutyric acid (GABA) action and its relation to synaptic inhibition. *Journal of neurophysiology*, *21*(6), 589–610. https://doi.org/10.1152/jn.1958.21.6.589

Kumbar, J., & Ganesh, C. B. (2021). The effect of α- MSH treatment on the hypothalamic-pituitary-gonad axis in the cichlid fish Oreochromis mossambicus. *Fish physiology and biochemistry*, *47*(5), 1659–1668. https://doi.org/10.1007/s10695-021-01005-9

Kwon, A., Eom, J. Y., Lee, W. J., Choi, H. S., Song, K., Suh, J., Chae, H. W., & Kim, H. S. (2022). Serum kisspeptin levels mainly depend on ovarian expression of *Kiss1* mRNA in female rats. *Frontiers in physiology*, *13*, 998446. https://doi.org/10.3389/fphys.2022.998446

La Cava, A., & Matarese, G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nature reviews. Immunology*, *4*(5), 371–379. https://doi.org/10.1038/nri1350

Labrie, F., Luu-The, V., Bélanger, A., Lin, S. X., Simard, J., Pelletier, G., & Labrie, C. (2005). Is dehydroepiandrosterone a hormone?. *The Journal of endocrinology*, *187*(2), 169–196. https://doi.org/10.1677/joe.1.06264

Lang, R., Gundlach, A. L., & Kofler, B. (2007). The galanin peptide family: receptor pharmacology, pleiotropic biological actions, and implications in health and disease. *Pharmacology & therapeutics*, *115*(2), 177–207. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.05.009

Laughlin, G. A., & Barrett-Connor, E. (2000). Sexual dimorphism in the influence of advanced aging on adrenal hormone levels: the Rancho Bernardo Study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, *85*(10), 3561–3568. https://doi.org/10.1210/jcem.85.10.6861

Lee, J. H., Miele, M. E., Hicks, D. J., Phillips, K. K., Trent, J. M., Weissman, B. E., & Welch, D. R. (1996). KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis- suppressor gene. *Journal of the National Cancer Institute*, *88*(23), 1731–1737. https://doi.org/10.1093/jnci/88.23.1731

Lehman, M. N., Coolen, L. M., & Goodman, R. L. (2010a). Minireview: kisspeptin/ neurokinin B/ dynorphin (KNDy) cells of the arcuate nucleus: central node in the control of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology*, *151*(8), 3479–3489. https://doi.org/10.1210/en.2010-0022

Lehman, M. N., Merkley, C. M., Coolen, L. M., & Goodman, R. L. (2010b). Anatomy of the kisspeptin neural network in mammals. *Brain research*, *1364*, 90–102. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.020

Leibowitz S. F. (2005). Regulation and effects of hypothalamic galanin: relation to dietary fat, alcohol ingestion, circulating lipids and energy homeostasis. *Neuropeptides*, *39*(3), 327–332. https://doi.org/10.1016/j.npep.2004.12.022

Levite M. (2017). Glutamate, T cells and multiple sclerosis. *Journal of neural transmission (Vienna, Austria (1996)*, *124*(7), 775–798. https://doi.org/10.1007/s00702-016-1661-z

Lhullier, F. L., Nicolaidis, R., Riera, N. G., Cipriani, F., Junqueira, D., Dahm, K. C., Brusque, A. M., & Souza, D. O. (2004). Dehydroepiandrosterone increases synaptosomal glutamate release and improves the performance in inhibitory avoidance task. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *77*(3), 601–606. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.12.015

Li, F., Zhu, F., Wang, S., Hu, H., Zhang, D., He, Z., ... Zhong, F. (2024). Icariin alleviates cisplatin-induced premature ovarian failure by inhibiting ferroptosis through activation of the Nrf2/ARE pathway. *Scientific reports*, *14*(1), 17318. https://doi.org/10.1038/s41598-024-67557-x

Lin, S., Boey, D., & Herzog, H. (2004). NPY and Y receptors: lessons from transgenic and knockout models. *Neuropeptides*, *38*(4), 189–200. https://doi.org/10.1016/j.npep.2004.05.005

Luisi, S., Orlandini, C., Regini, C., Pizzo, A., Vellucci, F., & Petraglia, F. (2015). Premature ovarian insufficiency: from pathogenesis to clinical management. *Journal of endocrinological investigation*, *38*(6), 597–603. https://doi.org/10.1007/s40618-014-0231-1

Madej, T., Boguski, M. S., & Bryant, S. H. (1995). Threading analysis suggests that the obese gene product may be a helical cytokine. *FEBS letters*, *373*(1), 13-18. https://doi.org/10.1016/0014-5793(95)00977-h

Maffucci, J. A., & Gore, A. C. (2009). Chapter 2: hypothalamic neural systems controlling the female reproductive life cycle gonadotropin-releasing hormone, glutamate, and GABA. *International review of cell and molecular biology*, *274*, 69–127. https://doi.org/10.1016/S1937-6448(08)02002-9

Maguire, J., & Mody, I. (2008). GABA(A)R plasticity during pregnancy: relevance to postpartum depression. *Neuron*, *59*(2), 207–213. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.06.019

Makowski, K. N., Kreisman, M. J., McCosh, R. B., Raad, A. A., & Breen, K. M. (2020). Peripheral interleukin-1β inhibits arcuate kiss1 cells and LH pulses in female mice. *The Journal of endocrinology*, *246*(2), 149–160. https://doi.org/10.1530/JOE-20-0165

Makri, A., Pissimissis, N., Lembessis, P., Polychronakos, C., & Koutsilieris, M. (2008). The kisspeptin (KiSS-1)/GPR54 system in cancer biology. *Cancer treatment reviews*, *34*(8), 682–692. https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.05.007

Mamas, L., & Mamas, E. (2009). Premature ovarian failure and dehydroepiandrosterone. *Fertility and sterility*, *91*(2), 644–646. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.11.055

Manfredi-Lozano, M., Roa, J., & Tena-Sempere, M. (2018). Connecting metabolism and gonadal function: Novel central neuropeptide pathways involved in the metabolic control of puberty and fertility. *Frontiers in neuroendocrinology*, *48*, 37–49. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2017.07.008

Maninger, N., Wolkowitz, O. M., Reus, V. I., Epel, E. S., & Mellon, S. H. (2009). Neurobiological and neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS). *Frontiers in neuroendocrinology*, *30*(1), 65–91. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2008.11.002

Mansour, A., Fox, C. A., Akil, H., & Watson, S. J. (1995). Opioid-receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends in neurosciences*, *18*(1), 22–29. https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)93946-u

Martins, K. R., Haas, C. S., Rovani, M. T., Moreira, F., Goetten, A. L. F., Ferst, J. G., ... Lucia, T., Jr (2021). Regulation and function of leptin during ovarian follicular development in cows. *Animal reproduction science*, *227*, 106689. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106689

Mayer, C., Acosta-Martinez, M., Dubois, S. L., Wolfe, A., Radovick, S., Boehm, U.,& Levine, J. E. (2010). Timing and completion of puberty in female mice depend on estrogen receptor alpha- signaling in kisspeptin neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(52), 22693–22698. https://doi.org/10.1073/pnas.1012406108

Merchenthaler, I., López, F. J., & Negro-Vilar, A. (1993). Anatomy and physiology of central galanin-containing pathways. *Progress in neurobiology*, *40*(6), 711–769. https://doi.org/10.1016/0301-0082(93)90012-h

Metzger, T. G., Paterlini, M. G., Ferguson, D. M., & Portoghese, P. S. (2001). Investigation of the selectivity of oxymorphone- and naltrexone-derived ligands via site-directed mutagenesis of opioid receptors: exploring the "address" recognition locus. *Journal of medicinal chemistry*, *44*(6), 857–862. https://doi.org/10.1021/jm000381r

Mikhael, S., Punjala-Patel, A., & Gavrilova-Jordan, L. (2019). Hypothalamic Pituitary- Ovarian Axis Disorders Impacting Female Fertility. *Biomedicines*, *7*(1), 5. https://doi.org/10.3390/biomedicines7010005

Minokoshi, Y., Alquier, T., Furukawa, N., Kim, Y. B., Lee, A., Xue, B., ... Kahn, B. B. (2004). AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*, *428*(6982), 569–574. https://doi.org/10.1038/nature02440

Miziak, B., Chrościńska-Krawczyk, M., & Czuczwar, S. J. (2020). Neurosteroids and Seizure Activity. *Frontiers in endocrinology*, *11*, 541802. https://doi.org/10.3389/fendo.2020.541802

Mohapatra, S. S., Mukherjee, J., Das, P., Ghosh, P. R., Das, K., De, S., & Banerjee, D. (2024). Expression profile of RFRP-3 gene in hypothalamic tissue and its relationship with reproductive hormones across phases of the estrous cycle in female rats. *Discover Animals*. https://doi.org/10.1007/s44338-024-00037-8

Molnár, C. S., Kalló, I., Liposits, Z., & Hrabovszky, E. (2011). Estradiol down regulates RF-amide-related peptide (RFRP) expression in the mouse hypothalamus. *Endocrinology*, *152*(4), 1684–1690. https://doi.org/10.1210/en.2010-1418

Montague, C. T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. P., Soos, M. A., Rau, H., Wareham, N. J., ... O'Rahilly, S. (1997). Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, *387*(6636), 903–908. https://doi.org/10.1038/43185

Monteiro, C. S., Scheffer, B. B., Carvalho, R. F., & Scheffer, J. B. (2019). The impact of dehydroepiandrosterone in poor ovarian responders on assisted reproduction technology treatment. *JBRA assisted reproduction*, *23*(4), 414–417. https://doi.org/10.5935/1518-0557.20190045

Moore R. Y. (2013). The suprachiasmatic nucleus and the circadian timing system. *Progress in molecular biology and translational science*, *119*, 1–28. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396971-2.00001-4

Mori, H., Hanada, R., Hanada, T., Aki, D., Mashima, R., Nishinakamura, H., ... Yoshimura, A. (2004). Socs3 deficiency in the brain elevates leptin sensitivity and confers resistance to diet-induced obesity. *Nature medicine*, *10*(7), 739–743. https://doi.org/10.1038/nm1071

Mountjoy K. G. (2010). Functions for pro-opiomelanocortin-derived peptides in obesity and diabetes. *The Biochemical journal*, *428*(3), 305–324. https://doi.org/10.1042/BJ20091957

Mountjoy, K. G., Robbins, L. S., Mortrud, M. T., & Cone, R. D. (1992). The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors. *Science (New York, N.Y.)*, *257*(5074), 1248–1251. https://doi.org/10.1126/science.1325670

Muir, A. I., Chamberlain, L., Elshourbagy, N. A., Michalovich, D., Moore, D. J., Calamari, A., … Harrison, D. C. (2001). AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *The Journal of biological chemistry*, *276*(31), 28969–28975. https://doi.org/10.1074/jbc.M102743200

Münzberg, H., & Myers, M. G., Jr (2005). Molecular and anatomical determinants of central leptin resistance. *Nature neuroscience*, *8*(5), 566–570. https://doi.org/10.1038/nn1454

Myers, B., Scheimann, J. R., Franco-Villanueva, A., & Herman, J. P. (2017). Ascending mechanisms of stress integration: Implications for brainstem regulation of neuroendocrine and behavioral stress responses. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, *74*(Pt B), 366–375. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.05.011

Myers, M. G., Cowley, M. A., & Münzberg, H. (2008). Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annual review of physiology*, *70*, 537–556. https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100707

Navarro, V. M., Gottsch, M. L., Chavkin, C., Okamura, H., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2009). Regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion by kisspeptin/dynorphin/neurokinin B neurons in the arcuate nucleus of the mouse. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *29*(38), 11859–11866. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1569-09.2009

Nelson L. M. (2009). Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. *The New England journal of medicine*, *360*(6), 606–614. https://doi.org/10.1056/NEJMcp0808697

Nieuwenhuys R, Voogd J, & Huijzen H. (2008) Gross Anatomy. In: *The Human Central Nervous System*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34686-9_3

Niswender, K. D., Morton, G. J., Stearns, W. H., Rhodes, C. J., Myers, M. G., Jr, & Schwartz, M. W. (2001). Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*, *413*(6858), 794–795. https://doi.org/10.1038/35101657

Nutt, D. J., & Malizia, A. L. (2001). New insights into the role of the GABA(A)-benzodiazepine receptor in psychiatric disorder. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, *179*, 390–396. https://doi.org/10.1192/bjp.179.5.390

Oakley, A. E., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2009). Kisspeptin signaling in the brain. *Endocrine Reviews*, *30*(6), 713–743. https://doi.org/10.1210/er.2009-0005

Ohtaki, T., Shintani, Y., Honda, S., Matsumoto, H., Hori, A., Kanehashi, K., ... Fujino, M. (2001). Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G- protein-coupled receptor. *Nature*, *411*(6837), 613–617. https://doi.org/10.1038/35079135

Ohtsuka, S., Miyake, A., Nishizaki, T., Tasaka, K., Aono, T., & Tanizawa, O. (1987). Substance P stimulates gonadotropin-releasing hormone release from rat hypothalamus in vitro with involvement of oestrogen. *Acta endocrinologica*, *115*(2), 247–252. https://doi.org/10.1530/acta.0.1150247

Olsen, R. W., & Sieghart, W. (2009). GABA A receptors: Subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology*, *56*(1), 141–148. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.07.045

O'Meara, G., Coumis, U., Ma, S. Y., Kehr, J., Mahoney, S., Bacon, A., ... Wynick, D. (2000). Galanin regulates the postnatal survival of a subset of basal forebrain cholinergic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *97*(21), 11569–11574. https://doi.org/10.1073/pnas.210254597

Palpagama, T. H., Sagniez, M., Kim, S., Waldvogel, H. J., Faull, R. L., & Kwakowsky, A. (2019). GABAA receptors are well preserved in the hippocampus of aged mice. *eNeuro*, *6*(4), ENEURO.0496-18.2019. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0496-18.2019

Pampillo, M., Camuso, N., Taylor, J. E., Szereszewski, J. M., Ahow, M. R., Zajac, M., ... Babwah, A. V. (2009). Regulation of GPR54 signaling by GRK2 and β-arrestin. *Molecular Endocrinology*, *23*(12), 2060–2074. https://doi.org/10.1210/me.2009-0013

Pedrazzini, T., Pralong, F., & Grouzmann, E. (2003). Neuropeptide Y: The universal soldier. *Cellular and Molecular Life Sciences, 60*(2), 350–377. https://doi.org/10.1007/s000180300029

Peelman, F., Van Beneden, K., Zabeau, L., Iserentant, H., Ulrichts, P., Defeau, D., ... Tavernier, J. (2004). Mapping of the leptin binding sites and design of a leptin antagonist. *Journal of Biological Chemistry, 279*(39), 41038–41046. https://doi.org/10.1074/jbc.M404962200

Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., Baker, M. B., Hecht, R., Winters, D., Boone, T., & Collins, F. (1995). Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science, 269*(5223), 540–543. https://doi.org/10.1126/science.7624776

Petroff, O. A. (2002). GABA and glutamate in the human brain. *The Neuroscientist, 8*(6), 562–573. https://doi.org/10.1177/1073858402238515

Pfaus, J. G., Shadiack, A., Van Soest, T., Tse, M., & Molinoff, P. (2004). Selective facilitation of sexual solicitation in the female rat by a melanocortin receptor agonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 101*(27), 10201–10204. https://doi.org/10.1073/pnas.0400491101

Plant, T. M. (2015a). 60 years of neuroendocrinology: The hypothalamo-pituitary-gonadal axis. *Journal of Endocrinology, 226*(2), T41–T54. https://doi.org/10.1530/JOE-15-0113

Plant, T. M. (2015b). Neuroendocrine control of the onset of puberty. *Frontiers in Neuroendocrinology, 38*, 73–88. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2015.04.002

Plum, L., Ma, X., Hampel, B., Balthasar, N., Coppari, R., Münzberg, H., ... Brüning, J. C. (2006). Enhanced PIP3 signaling in POMC neurons causes KATP channel activation and leads to diet-sensitive obesity. *Journal of Clinical Investigation, 116*(7), 1886–1901. https://doi.org/10.1172/JCI27123

Poling, M. C., Kim, J., Dhamija, S., & Kauffman, A. S. (2012). Development, sex steroid regulation, and phenotypic characterization of RFamide-related peptide (Rfrp) gene expression and RFamide receptors in the mouse hypothalamus. *Endocrinology, 153*(4), 1827–1840. https://doi.org/10.1210/en.2011-2049

Qian, X., Zhao, X., Yu, L., Yin, Y., Zhang, X. D., Wang, L., ... Zhu, Q. (2023). Current status of GABA receptor subtypes in analgesia. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 168*, 115800. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115800

Qiu, X., Dao, H., Wang, M., Heston, A., Garcia, K. M., Sangal, A., ... Hill, J. W. (2015). Insulin and leptin signaling interact in the mouse Kiss1 neuron during the peripubertal period. *PLOS ONE, 10*(5), e0121974. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121974

Quennell, J. H., Howell, C. S., Roa, J., Augustine, R. A., Grattan, D. R., & Anderson, G. M. (2011). Leptin deficiency and diet-induced obesity reduce hypothalamic kisspeptin expression in mice. *Endocrinology, 152*(4), 1541–1550. https://doi.org/10.1210/en.2010-1100

Quennell, J. H., Mulligan, A. C., Tups, A., Liu, X., Phipps, S. J., Kemp, C. J., ... Anderson, G. M. (2009). Leptin indirectly regulates gonadotropin- releasing hormone neuronal function. *Endocrinology, 150*(6), 2805–2812. https://doi.org/10.1210/en.2008-1693

Ritthausen, K. (1913). On a procedure for separating inosinic acid. *Journal of Tokyo Chemical Society, 34*, 751–757.

Roa, J., Garcia-Galiano, D., Varela, L., Sánchez-Garrido, M. A., Pineda, R., Castellano, J. M., ... Tena-Sempere, M. (2009). The mammalian target of rapamycin as novel central regulator of puberty onset via modulation of hypothalamic Kiss1 system. *Endocrinology, 150*(11), 5016–5026. https://doi.org/10.1210/en.2009-0096

Roberts, E., & Frankel, S. (1950). Gamma-aminobutyric acid in brain: Its formation from glutamic acid. *Journal of Biological Chemistry, 187*(1), 55–63.

Robinson, J. K., & Brewer, A. (2008). Galanin: a potential role in mesolimbic dopamine-mediated instrumental behavior. *Neuroscience and biobehavioral reviews, 32*(8), 1485–1493. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.05.025

Romanò, N., Lee, K., Abrahám, I. M., Jasoni, C. L., & Herbison, A. E. (2008). Nonclassical estrogen modulation of presynaptic GABA terminals modulates calcium dynamics in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*, *149*(11), 5335–5344. https://doi.org/10.1210/en.2008-0424

Ross, M. H., & Pawlina, W. (2019). *Histology: A text and atlas with correlated cell and molecular biology* (6th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Sakurai, T. (2007). The neural circuit of orexin (hypocretin): Maintaining sleep and wakefulness. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(3), 171–181. https://doi.org/10.1038/nrn2092

Samodien, E., Pheiffer, C., Erasmus, M., Mabasa, L., Louw, J., & Johnson, R. (2019). Diet-induced DNA methylation within the hypothalamic arcuate nucleus and dysregulated leptin and insulin signaling in the pathophysiology of obesity. *Food Science & Nutrition*, 7(10), 3131–3145. https://doi.org/10.1002/fsn3.1169

Santoro, N. (2003). Mechanisms of premature ovarian failure. *Annales d'Endocrinologie*, 64(2), 87–92.

Saper, C. B. (2002). The central autonomic nervous system: Conscious visceral perception and autonomic pattern generation. *Annual Review of Neuroscience*, 25, 433–469. https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.032502.111311

Saper, C. B., & Lowell, B. B. (2014). The hypothalamus. *Current Biology*, 24(23), R1111–R1116. https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.10.023

Saper, C. B., Lu, J., Chou, T. C., & Gooley, J. (2005). The hypothalamic integrator for circadian rhythms. *Trends in Neurosciences*, 28(3), 152–157. https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.12.009

Sawyer, T. K., Sanfilippo, P. J., Hruby, V. J., Engel, M. H., Heward, C. B., Burnett, J. B., & Hadley, M. E. (1980). 4-Norleucine, 7-D-phenylalanine-alpha-melanocyte-stimulating hormone: A highly potent alpha-melanotropin with ultralong biological activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77 (10), 5754–5758. https://doi.org/10.1073/pnas.77.10.5754

Scarlett, J. M., Zhu, X., Enriori, P. J., Bowe, D. D., Batra, A. K., Levasseur, P. R., ... Marks, D. L. (2008). Regulation of agouti-related protein messenger ribonucleic acid transcription and peptide secretion by acute and chronic inflammation. *Endocrinology*, 149(10), 4837–4845. https://doi.org/10.1210/en.2007-1680

Schiöth, H. B., & Watanobe, H. (2002). Melanocortins and reproduction. *Brain Research Reviews*, 38(3), 340–350. https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00159-X

Schröder, H., Moser, N., & Huggenberger, S. (2020). The mouse thalamus. In *Neuroanatomy of the mouse*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-19898-5_8

Schwartz, M. W., Sipols, A. J., Marks, J. L., Sanacora, G., White, J. D., Scheurink, A., ... Figlewicz, D. P. (1992). Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology*, *130*(6), 3608–3616. https://doi.org/10.1210/endo.130.6.1597158

Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6778), 661–671. https://doi.org/10.1038/35007534

Sen, A., & Hammes, S. R. (2010). Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function. *Molecular Endocrinology*, 24(7), 1393–1403. https://doi.org/10.1210/me.2010-0006

Shi, H., Seeley, R. J., & Clegg, D. J. (2009). Sexual differences in the control of energy homeostasis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *30*(3), 396–404. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.03.004

Shippenberg, T. S., Zapata, A., & Chefer, V. I. (2007). Dynorphin and the pathophysiology of drug addiction. *Pharmacology & Therapeutics*, *116*(2), 306–321. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2007.06.011

Shutter, J. R., Graham, M., Kinsey, A. C., Scully, S., Lüthy, R., & Stark, K. L. (1997). Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is up-regulated in obese and diabetic mutant mice. *Genes & Development*, *11*(5), 593–602. https://doi.org/10.1101/gad.11.5.593

Sigorski, D., Sejda, A., Abualsaud, N., Krawczyk, E., Izycka-Swieszewska, E., & Kitlinska, J. (2025). Neuropeptide Y in cancer—biological functions and potential clinical implications. *Cancer and Metastasis Reviews*, *44*(1), 21. https://doi.org/10.1007/s10555-024-10237-z

Simonneaux, V., & Ancel, C. (2012). RFRP neurons are critical gatekeepers for the photoperiodic control of reproduction. *Frontiers in Endocrinology*, *3*, 168. https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00168

Singh, P., Anjum, S., Srivastava, R. K., Tsutsui, K., & Krishna, A. (2022). Central and peripheral neuropeptide RFRP-3: A bridge linking reproduction, nutrition, and stress response. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *65*, 100979. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2022.100979

Sirotkin, A. V., Kardošová, D., Alwasel, S. H., & Harrath, A. H. (2015). Neuropeptide Y directly affects ovarian cell proliferation and apoptosis. *Reproductive Biology*, *15*(4), 257–260. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2015.07.004

Smith, J. T., Acohido, B. V., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2006a). KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *Journal of Neuroendocrinology*, *18* (4), 298–303. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01417.x

Smith, J. T., Coolen, L. M., Kriegsfeld, L. J., Sari, I. P., Jaafarzadehshirazi, M. R., Maltby, ... Lehman, M. N. (2008). Variation in kisspeptin and RF amide 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*(11), 5770–5782. https://doi.org/10.1210/en.2008-0581

Smith, J. T., Cunningham, M. J., Rissman, E. F., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2005). Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology, 146*(9), 3686–3692. https://doi.org/10.1210/en.2005-0488

Smith, J. T., Popa, S. M., Clifton, D. K., Hoffman, G. E., & Steiner, R. A. (2006b). Kiss1 neurons in the forebrain as central processors for generating the preovulatory luteinizing hormone surge. *Journal of Neuroscience, 26*(25), 6687–6694. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1618-06.2006

Smith, K. E., Walker, M. W., Artymyshyn, R., Bard, J., Borowsky, B., Tamm, J. A., ... Jones, K. A. (1998a). Cloned human and rat galanin GALR3 receptors: Pharmacology and activation of G-protein inwardly rectifying K+ channels. *Journal of Biological Chemistry, 273*(36), 23321–23326. https://doi.org/10.1074/jbc.273.36.23321

Smith, S. S., Gong, Q. H., Hsu, F. C., Markowitz, R. S., ffrench-Mullen, J. M., & Li, X. (1998b). GABA(A) receptor alpha4 subunit suppression prevents withdrawal properties of an endogenous steroid. *Nature, 392*(6679), 926–930. https://doi.org/10.1038/31948

Soghomonian, J. J., & Martin, D. L. (1998). Two isoforms of glutamate decarboxylase: Why? *Trends in Pharmacological Sciences, 19*(12), 500–505. https://doi.org/10.1016/s0165-6147(98)01270-x

Sohal, V. S., Zhang, F., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature, 459*(7247), 698–702. https://doi.org/10.1038/nature07991

Son, Y. L., Ubuka, T., & Tsutsui, K. (2019). Molecular mechanisms of gonadotropin- inhibitory hormone (GnIH) actions in target cells and regulation of GnIH expression. *Frontiers in Endocrinology, 10*, 110. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00110

Song, X., Bao, M., Li, D., & Li, Y. M. (1999). Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mechanisms of Ageing and Development, 108*(3), 239–251. https://doi.org/10.1016/s0047-6374(99)00022-6

Sozen, B., Ozekinci, M., Erman, M., Gunduz, T., Demir, N., & Akouri, R. (2019). Dehydroepiandrosterone supplementation attenuates ovarian ageing in a galactose-induced primary ovarian insufficiency rat model. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics, 36*(10), 2181–2189. https://doi.org/10.1007/s10815-019-01560-4

Stincic, T. L., & Kelly, M. J. (2022). Estrogenic regulation of reproduction and energy homeostasis by a triumvirate of hypothalamic arcuate neurons. *Journal of Neuroendocrinology, 34*(6), e13145. https://doi.org/10.1111/jne.13145

Su, L. D., Wang, N., Han, J., & Shen, Y. (2022). Group 1 metabotropic glutamate receptors in neurological and psychiatric diseases: Mechanisms and prospective. *The Neuroscientist, 28*(5), 453–468. https://doi.org/10.1177/10738584211021018

Sutton, G. M., Begriche, K., Kumar, K. G., Gimble, J. M., Perez-Tilve, D., Nogueiras, R., ... Butler, A. A. (2010). Central nervous system melanocortin-3 receptors are required for synchronizing metabolism during entrainment to restricted feeding during the light cycle. *FASEB Journal*, *24*(3), 862–872. https://doi.org/10.1096/fj.09-142000

Tammasse, I. F. U., & Tamrin, F. (2023). Different of hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male and female. *Reproductive Medicine International*, *6*, 023. https://doi.org/10.23937/2643-4555/1710023

Tang, J., Chen, L. R., & Chen, K. H. (2021). The Utilization of Dehydroepiandrosterone as a Sexual Hormone Precursor in Premenopausal and Postmenopausal Women: An Overview. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, *15*(1), 46. https://doi.org/10.3390/ph15010046

Tang, B., Ji, Y., & Traub, R. J. (2008). Estrogen alters spinal NMDA receptor activity via a PKA signaling pathway in a visceral pain model in the rat. *Pain*, *137*(3), 540–549. https://doi.org/10.1016/j.pain.2007.10.017

Tartaglia, L. A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., ...Tepper, R. I. (1995). Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell*, *83*(7), 1263–1271. https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90151-5

Tatemoto, K., Carlquist, M., & Mutt, V. (1982). Neuropeptide Y- a novel brain peptide with structural similarities to peptide YY and pancreatic polypeptide. *Nature*, *296*(5858), 659–660. https://doi.org/10.1038/296659a0

Tatemoto, K., Rökaeus, A., Jörnvall, H., McDonald, T. J., & Mutt, V. (1983). Galanin—a novel biologically active peptide from porcine intestine. *FEBS Letters*, *164*(1), 124–128. https://doi.org/10.1016/0014-5793(83)80033-7

Tena-Sempere M. (2006). GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Human reproduction update*, *12*(5), 631–639. https://doi.org/10.1093/humupd/dml023

Tena-Sempere, M. (2007). Roles of ghrelin and leptin in the control of reproductive function. *Neuroendocrinology*, *86*(3), 229–241. https://doi.org/10.1159/000108410

Tena-Sempere, M. (2013). Keeping puberty on time: Novel signals and mechanisms involved. In *Current Topics in Developmental Biology* (Vol. 105, pp. 299–329). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-396968-2.00011-7

Terasawa, E., & Fernandez, D. L. (2001). Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocrine Reviews*, *22*(1), 111–151. https://doi.org/10.1210/edrv.22.1.0418

Trevisan, C. M., Montagna, E., de Oliveira, R., Christofolini, D. M., Barbosa, C. P., Crandall, K. A., & Bianco, B. (2018). Kisspeptin/GPR54 System: What Do We Know About Its Role in Human Reproduction?. *Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, *49*(4), 1259–1276. https://doi.org/10.1159/000493406

True, C., Verma, S., Grove, K. L., & Smith, M. S. (2013). Cocaine- and amphetamine-regulated transcript is a potent stimulator of GnRH and kisspeptin cells and may contribute to negative energy balance-induced reproductive inhibition in females. *Endocrinology*, *154*(8), 2821– 2832. https://doi.org/10.1210/en.2013-1156

Tsutsui, K., Bentley, G. E., Bedecarrats, G., Osugi, T., Ubuka, T., & Kriegsfeld, L. J. (2010). Gonadotropin-inhibitory hormone (GnIH) and its control of central and peripheral reproductive function. *Frontiers in Neuroendocrinology, 31*(3), 284–295. https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.03.001

Tsutsui, K., Saigoh, E., Ukena, K., Teranishi, H., Fujisawa, Y., Kikuchi, M., Ishii, S.,& Sharp, P. J. (2000). A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 275*(2),661– 667. https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3350

Ubuka, T., Lai, H., Kitani, M., Suzuuchi, A., Pham, V., Cadigan, P. A., ... Bentley, G. E. (2009). Gonadotropin-inhibitory hormone identification, cDNA cloning, and distribution in rhesus macaque brain. *Journal of Comparative Neurology, 517*(6), 841–855. https://doi.org/10.1002/cne.22191

Ubuka, T., Son, Y. L., & Tsutsui, K. (2016). Molecular, cellular, morphological, physiological and behavioral aspects of gonadotropin- inhibitory hormone. *General and Comparative Endocrinology, 227*, 27–50. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.09.009

Ubuka, T., Son, Y. L., Tobari, Y., & Tsutsui, K. (2012). Gonadotropin- inhibitory hormone action in the brain and pituitary. *Frontiers in endocrinology*, *3*, 148. https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00148

Uenoyama, Y., Inoue, N., Nakamura, S., & Tsukamura, H. (2021a). Kisspeptin neurons and estrogen–estrogen receptor α signaling: Unraveling the mystery of steroid feedback system regulating mammalian reproduction. *International Journal of Molecular Sciences, 22*(17), 9229. https://doi.org/10.3390/ijms22179229

Ukena, K., Iwakoshi, E., Minakata, H., & Tsutsui, K. (2002). A novel rat hypothalamic RFamide- related peptide identified by immunoaffinity chromatography and mass spectrometry. *FEBS Letters, 512*(1–3), 255–258. https://doi.org/10.1016/s0014-5793(02)02275-5

Urata, Y., Salehi, R., Lima, P. D. A., Osuga, Y., & Tsang, B. K. (2020). Neuropeptide Y regulates proliferation and apoptosis in granulosa cells in a follicular stage- dependent manner. *Journal of Ovarian Research, 13*(1), 5. https://doi.org/10.1186/s13048-019-0608-z

Vale, W., Spiess, J., Rivier, C., & Rivier, J. (1981). Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta- endorphin. *Science, 213*(4514), 1394–1397. https://doi.org/10.1126/science.6267699

van Kasteren, Y. M., & Schoemaker, J. (1999). Premature ovarian failure: A systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. *Human Reproduction Update, 5*(5), 483–492. https://doi.org/10.1093/humupd/5.5.483

Vanderah, T. W., Ossipov, M. H., Lai, J., Malan, T. P., Jr., & Porreca, F. (2001). Mechanisms of opioid- induced pain and antinociceptive tolerance: Descending facilitation and spinal dynorphin. *Pain, 92*(1–2), 5–9. https://doi.org/10.1016/s0304-3959(01)00311-6

Vann, S. D., & Aggleton, J. P. (2004). The mammillary bodies: Two memory systems in one? *Nature Reviews Neuroscience, 5*(1), 35–44. https://doi.org/10.1038/nrn1299

von Hörsten, S., Hoffmann, T., Alfalah, M., Wrann, C. D., Karl, T., Pabst, R., & Bedoui, S. (2004). PP, PYY and NPY: Synthesis, storage, release and degradation. In *Neuropeptides in Regulation of Reproductive Function* (pp. 23–44). https://doi.org/10.1007/978-3-642-18764-3_2

Walker, W. H., & Cheng, J. (2005). FSH and testosterone signaling in Sertoli cells. *Reproduction*, *130*(1), 15–28. https://doi.org/10.1530/rep.1.00358

Wang, S., Hashemi, T., He, C., Strader, C., & Bayne, M. (1997). Molecular cloning and pharmacological characterization of a new galanin receptor subtype. *Molecular Pharmacology*, *52*(3), 337–343. https://doi.org/10.1124/mol.52.3.337

Wang, Z., Ma, W., Chabot, J. G., & Quirion, R. (2010). Calcitonin gene-related peptide as a regulator of neuronal CaMKII-CREB, microglial p38-NFκB and astroglial ERK-Stat1/3 cascades mediating the development of tolerance to morphine-induced analgesia. *Pain*, *151*(1), 194–205. https://doi.org/10.1016/j.pain.2010.07.006

Watanabe, M., Fukuda, A., & Nabekura, J. (2014). The role of GABA in the regulation of GnRH neurons. *Frontiers in Neuroscience*, *8*, 387. https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00387

Watanabe, M., Maemura, K., Kanbara, K., Tamayama, T., & Hayasaki, H. (2002). GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *International Review of Cytology*, *213*, 1–47. https://doi.org/10.1016/s0074-7696(02)13011-7

Watanobe, H., Schiöth, H. B., Wikberg, J. E., & Suda, T. (1999). The melanocortin 4 receptor mediates leptin stimulation of luteinizing hormone and prolactin surges in steroid-primed ovariectomized rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *257*(3), 860–864. https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0547

Watkins, J. C., & Evans, R. H. (1981). Excitatory amino acid transmitters. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *21*, 165–204. https://doi.org/10.1146/annurev.pa.21.040181.001121

Watson, S. J., Akil, H., Ghazarossian, V. E., & Goldstein, A. (1981). Dynorphin immunocytochemical localization in brain and peripheral nervous system: Preliminary studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *78*(2), 1260–1263. https://doi.org/10.1073/pnas.78.2.1260

Wheway, J., Mackay, C. R., Newton, R. A., Sainsbury, A., Boey, D., Herzog, H., & Mackay, F. (2005). A fundamental bimodal role for neuropeptide Y1 receptor in the immune system. *Journal of Experimental Medicine*, *202*(11), 1527–1538. https://doi.org/10.1084/jem.20051971

Wikberg, J. E., Muceniece, R., Mandrika, I., Prusis, P., Lindblom, J., Post, C., & Skottner, A. (2000). New aspects on the melanocortins and their receptors. *Pharmacological Research*, *42* (5), 393– 420. https://doi.org/10.1006/phrs.2000.0725

Willard, S. S., & Koochekpour, S. (2013). Glutamate, glutamate receptors, and downstream signaling pathways. *International Journal of Biological Sciences*, *9*(9), 948–959. https://doi.org/10.7150/ijbs.6426

Williams, J. T., Ingram, S. L., Henderson, G., Chavkin, C., von Zastrow, M., Schulz, S., ... Christie, M. J. (2013). Regulation of μ-opioid receptors: Desensitization, phosphorylation, internalization, and tolerance. *Pharmacological Reviews*, *65*(1), 223–254. https://doi.org/10.1124/pr.112.005942

Wilsterman, K., Bentley, G. E., & Comizzoli, P. (2019). RFRP3 influences basal lamina degradation, cellular death, and progesterone secretion in cultured preantral ovarian follicles from the domestic cat. *Peer J*, *7*, e7540. https://doi.org/10.7717/peerj.7540

Wiser, A., Gonen, O., Ghetler, Y., Shavit, T., Berkovitz, A., & Shulman, A. (2010). Addition of dehydroepiandrosterone (DHEA) for poor-responder patients before and during IVF treatment improves the pregnancy rate: a randomized prospective study. *Human reproduction (Oxford, England)*, *25*(10), 2496–2500. https://doi.org/10.1093/humrep/deq220

Wray, S. (2010). From nose to brain: Development of gonadotrophin-releasing hormone-1 neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, *22*(7), 743–753. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02034.x

Wu, Q., Boyle, M. P., & Palmiter, R. D. (2009). Loss of GABAergic signaling by AgRP neurons to the parabrachial nucleus leads to starvation. *Cell*, *137*(7), 1225–1234. https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.022

Wynick, D., Small, C. J., Bacon, A., Holmes, F. E., Norman, M., Ormandy,... & Pachnis, V. (1998). Galanin regulates prolactin release and lactotroph proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *95*(21), 12671–12676. https://doi.org/10.1073/pnas.95.21.12671

Xu, L., Hu, C., Liu, Q., & Li, Y. (2019). The effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) supplementation on IVF or ICSI: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde*, *79*(7), 705–712. https://doi.org/10.1055/a-0882-3791

Xu, Y., Guan, X., Zhou, R., & Gong, R. (2020). Melanocortin 5 receptor signaling pathway in health and disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *77*(19), 3831–3840. https://doi.org/10.1007/s00018-020-03511-0

Xu, Z. Q., Shi, T. J., Landry, M., & Hökfelt, T. (1996). Evidence for galanin receptors in primary sensory neurones and effect of axotomy and inflammation. *Neuroreport*, *8*(1), 237–242. https://doi.org/10.1097/00001756-199612200-00048

Yoshida, H., Habata, Y., Hosoya, M., Kawamata, Y., Kitada, C., & Hinuma, S. (2003). Molecular properties of endogenous RFamide-related peptide-3 and its interaction with receptors. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1593*(2–3), 151– 157. https://doi.org/10.1016/s0167-4889(02)00389-0

Yu, W. H., Kimura, M., Walczewska, A., Karanth, S., & McCann, S. M. (1997). Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *94*(3), 1023–1028. https://doi.org/10.1073/pnas.94.3.1023

Zhang, F., Basinski, M. B., Beals, J. M., Briggs, S. L., Churgay, L. M., Clawson, D. K., ... Schevitz, R. W. (1997). Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature*, *387*(6629), 206–209. https://doi.org/10.1038/387206a0

Zhang, J., & Gong, M. (2018). Review of the role of leptin in the regulation of male reproductive function. *Andrologia*. https://doi.org/10.1111/and.12965

Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, *372*(6505), 425–432. https://doi.org/10.1038/372425a0

Zhang, Y., Zhang, C., Shu, J., Guo, J., Chang, H. M., Leung, P. C. K., ... Huang, H. (2020). Adjuvant treatment strategies in ovarian stimulation for poor responders undergoing IVF: A systematic review and network meta-analysis. *Human Reproduction Update*, *26*(2), 247–263. https://doi.org/10.1093/humupd/dmz046

Zhao, A. Z., Huan, J. N., Gupta, S., Pal, R., & Sahu, A. (2002). A phosphatidylinositol 3-kinase phosphodiesterase 3B–cyclic AMP pathway in hypothalamic action of leptin on feeding. *Nature Neuroscience*, *5*(8), 727–728. https://doi.org/10.1038/nn885

Zhao, S., Zhu, E., Yang, C., Bentley, G. E., Tsutsui, K., & Kriegsfeld, L. J. (2010). RFamide-related peptide and messenger ribonucleic acid expression in mammalian testis: Association with the spermatogenic cycle. *Endocrinology*, *151*(2), 617–627. https://doi.org/10.1210/en.2009-0978

Zhao, Y., Wang, J., Qin, W., Hu, Q., Li, J., Qin, R., ... Qin, A. (2024). Dehydroepiandrosterone promotes ovarian angiogenesis and improves ovarian function in a rat model of premature ovarian insufficiency by up-regulating HIF-1α/VEGF signalling. *Reproductive BioMedicine Online*, *49*(3), 103914. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2024.103914

Zheng, S., Ma, M., Chen, Y., & Li, M. (2021). Effects of quercetin on ovarian function and regulation of the ovarian PI3K/Akt/FoxO3a signalling pathway and oxidative stress in a rat model of cyclophosphamide-induced premature ovarian failure. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *130*(2), 240–253. https://doi.org/10.1111/bcpt.13696

Zhou, Y., & Danbolt, N. C. (2014). Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *Journal of Neural Transmission*, *121*(8), 799–817. https://doi.org/10.1007/s00702-014-1180-8

7. SİMGELER VE KISALTMALAR

3V	**:**	3.Ventrikül
AC	**:**	Adenil Siklaz
ACTB	**:**	β-actin
ACTH	**:**	Adrenokortikotropik Hormon
AGE	**:**	İleri Glikasyon Son Ürünleri
AgRP	**:**	Agouti-ilişkili Protein
AM	**:**	Amigdala
AMH	**:**	Anti-müllerian Hormon
AMPAR	**:**	AMPA Reseptörü
AMPK	**:**	AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz
AN	**:**	Anterior Çekirdek/Anterior Nükleus
AR	**:**	Androjen Reseptörü
ARC	**:**	Arkuat Çekirdek/ Arkuat Nükleus
ARE	**:**	Androjen Tepki Elemanları
AVPV	**:**	Anteroventral Periventriküler Çekirdek
Ca^{2+}	**:**	Kalsiyum
cAMP	**:**	Siklik AMP
CART	**:**	Kokain ve Amfetaminle Düzenlenen Transkript
CC	**:**	Korpus Kallozum
cDNA	**:**	Komplementer DNA
Cl^-	**:**	Klorür
CRH	**:**	Kortikotropin Salgılatıcı Hormon
CTX	**:**	Siklofosfamid
DAG	**:**	Diaçilgliserol
DEHYUAM	**:**	Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi
DHA	**:**	Dorsal Hipotalamik Alan
DHEA	**:**	Dehidroepiandrosteron
DHEA-S	**:**	DHEA-Sülfat
DMH	**:**	Dorsomedial Hipotalamus
DMN	**:**	Dorsomedial Çekirdek/Dorsomedial Nükleus
DMSO	**:**	Dimetil Sülfoksit
DOR	**:**	Delta-Opioid Reseptörleri
E_2	**:**	Östradiol
ELISA	**:**	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	**:**	Östrojen Reseptörü
ERα	**:**	Östrojen Reseptörü Alfa
ESHRE	**:**	Avrupa İnsan Üreme ve Embriyolojisi Derneği
FSH	**:**	Folikül Uyarıcı Hormon
FX	**:**	Forniks
GABA	**:**	Gama-Aminoütirik Asit
GABA-T	**:**	GABA-Transaminaz
GAD	**:**	Glutamat Dekarboksilaz
GALR	**:**	Galanin Reseptörü
G-CSF	**:**	Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
GH	**:**	Büyüme Hormonu
GHRH	**:**	Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon

GHSR : Büyüme Hormonu Salgılatıcı Reseptör
GIRK : G Proteinine Bağlı Potasyum Kanalları
GnIH : Gonadotropin İnhibitör Hormon
GnRH : Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPCR : G Proteinine Bağlı Reseptör
H&E : Hematoksilen & Eozin
HPA : Hipotalamus- Hipofiz- Adrenal
HPG : Hipotalamus- Hipofiz- Gonad
i.p : İntraperitoneal
iGluR : İyonotropik Glutamat Reseptörü
IL-1β : İnterlökin-1 Beta
IL-6 : İnterlökin-6
IP_3 : İnositol Trifosfat
IPSC : İnhibitor Postsinaptik Akım
IRS : İnsülin Reseptör Substratı
IVF : In-Vitro Fertilizasyon
KAR : Kainat Reseptörü
KCC2 : Potasyum Klorür Kotransporterı
KISS1 : Kisspeptin
KISS1R : Kisspeptin Reseptörü
KNDy : Kisspeptin/Nörokinin B/Dinorfin Nöronları
KOR : Kappa-Opioid Reseptörü
LDCV : Büyük Yoğun Çekirdekli Veziküller
LEPR : Leptin Reseptörü
LH : Luteinize Edici Hormon
LHA : Lateral Hipotalamik Alan
LTP : Uzun Vadeli Potansiyasyon
MAPK : Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
MCH : Melanin-Konsantre Edici Hormon
MCR : Melanokortin Reseptörü
ME : Median Eminens
Mg^{2+} : Magnezyum
mGluR : Metabotropik Glutamat reseptörü
MMP-9 : Matriks Metalloproteinaz 9
MOR : Mu-Opioid Reseptörleri
MPN : Medial Preoptik Çekirdek/ Medial Preoptik Nükleus
MPOA : Medial Preoptik Alan
mRNA : Mesajcı RNA
MSS : Merkezi Sinir Sistemi
MT1 : Melatonin 1
NKB : Nörokinin B
NMDA : N-Metil-D-Aspartat
NMDAR : N-Metil-D-Aspartat Reseptörü
NOR : Normal Ovaryan Rezerv
NPY : Nöropeptid Y
Ob-R : Leptin Reseptörü
OC : Optik Kiyazma
OVX : Overektomi

PFA	**:**	Periformik Alan
PI3K	**:**	Fosfoinozitid 3-Kinaz
PKC	**:**	Protein Kinaz C
PKOS	**:**	Polikistik Over Sendromu
PLC	**:**	Fosfolipaz C
PLP	**:**	Piridoksal Fosfat
POA	**:**	Preoptik Alan
POMC	**:**	Pro-opiomelanokortin
POY	**:**	Prematür Over Yetmezliği
PP	**:**	Pankreas Polipeptidi
PVN	**:**	Paraventriküler Çekirdek/ Paraventriküler Nükleus
RFRP	**:**	RF-Amid-İlişkili Peptid
RT-PCR	**:**	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
s.c.	**:**	Subkutan
SCN	**:**	Suprakiyazmatik Çekirdek/ Suprakiyazmatik Nükleus
SOCS3	**:**	Sitokin Sinyallemesinin Baskılayıcısı 3
SON	**:**	Supraoptik Çekirdek/ Supraoptik Nükleus
STAT-3	**:**	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü 3
TH	**:**	Talamus
Th1	**:**	Yardımcı T hücresi 1
TNF-α	**:**	Tümor Nekroz Faktör- Alfa
TSH	**:**	Tirotropin Salgılatıcı Hormon
VCD	**:**	4-Vinylcyclohexene Diepoxide
VMN	**:**	Ventromedial Çekirdek/ Ventromedial Nükleus
WAT	**:**	Beyaz Yağ Dokusu
Zn^{2+}	**:**	Çinko
α-MSH	**:**	Alfa-Melanosit Uyarıcı Hormon

8. EKLER

EK 1.

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
Görükle Yerleşkesi, 16059 Nilüfer/ BURSA-TÜRKİYE
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	*Prematür Over Yetmezliği Modelinde Dehidroepiandrosteronun GnRH Regülasyonuna Etkisi: Hipotalamik Peptid-Reseptör Ekspresyon Profili*
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ KURUMU	Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKIR BUÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD
	YARDIMCI ARAŞTIRICILAR	Araş. Gör. Zehra Selen MUTLU — Doç. Dr. Kiper ASLAN Prof. Dr. Işıl KASAPOĞLU — Prof. Dr. Gürkan UNCU
	ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	Zehra Selen MUTLU'nun Yüksek Lisans Tez Projesi
	ARAŞTIRMANIN SÜRESİ	01.04.2025 – 01.10.2025
	KULLANILACAK HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI	49 Adet Dişi Sıçan

	Belge Adı	Tarihi
DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	ARAŞTIRMA BAŞVURU FORMU	**25.02.2025**

KARAR BİLGİLERİ

Karar No : 2025 - 04 / 05 **Tarih: 04.03.2025**

Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak görüşüldü ve ilgili belgeler incelendi. Projenin etik açıdan uygun olduğuna, çalışmanın aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve sorumlu araştırıcıya iletilmesine oy birliği/oy çokluğu ile karar verildi.

1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması,
2) Projede çalışacağı bildirilen araştırıcılarda değişiklik olduğunda kurulumuzdan onay alınması,
3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihinin bildirilmesi,
4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması,
5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.

ÜYELER

Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	İlişki (*)	İmza		Düşünceler
				Kabul	Ret	
Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY Başkan	Tıp- Farmakoloji	Tıp Fakültesi	☐ E ■ H			
Dr.Öğr. Üyesi Sezer ERER KAFA Üye	Tıp - Tıp Tarihi ve Etik	Tıp Fakültesi	☐ E ■ H			
Doç. Dr. Diğdem YÖYEN ERMİŞ Üye	Tıp- İmmunoloji	Tıp Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Veli Yılgör ÇIRAK Üye	Veteriner- Parazitoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Özgür ÖZYİĞİT Üye	Veteriner- Patoloji	Veteriner Fakültesi	☐ E ■ H			
Doç. Dr. Arda SÖZCÜ Üye	Ziraat- Zootekni	Ziraat Fakültesi	☐ E ■ H			
Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKILIÇ Üye	Fen Edebiyat - Biyoloji	Fen Edebiyat Fakültesi	☐ E ■ H			
Nedim SÖNMEZ Üye	Sivil Toplum Kuruluş Üyesi	Emekli	☐ E ■ H			
Filiz TORUN Üye	Sivil Üye	Emekli	☐ E ■ H			
Faruk KÜÇÜKYILDIZ Üye	Veteriner Hekim	BUÜ-DENHAB	☐ E ■ H			

9. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, bilgi birikimi, tecrübesi ve sabrıyla bana yol gösteren değerli hocam Prof. Dr. Berrin AVCI'ya; tez çalışmamın planlanıp tamamlanmasına kadar geçen tüm süreçte, hem akademik, hem mental desteğiyle, gerek çalışma arkadaşı, gerek bir abi, gerekse danışman hocam olarak her konuda bana destek olan, laboratuvarda çalışma disiplinini bana kazandıran değerli hocam Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKIR'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimimin hem ders, hem de tez sürecinde tecrübelerini ve zamanlarını esirgemeyen Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Semiha ERSOY'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Özhan EYİGÖR, Prof. Dr. Fatma Zehra MİNBAY, Doç. Dr. Sema SERTER KOÇOĞLU, Dr. Öğr. Üyesi Duygu GÖK YURTSEVEN'e teşekkür ederim.

İhtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyen Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm asistan arkadaşlarıma, çalışanlarına ve laboratuvar çalışmalarımdaki desteklerinden dolayı Biyolog Ayşe AKTAŞ'a teşekkür ederim.

Eğitimime ve vizyonuma çok büyük katkıları olan Bursa Uludağ Üniveristesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Ögretim Üyeleri Prof. Dr. Gürkan UNCU, Prof. Dr. Işıl KASAPOĞLU ve Doç. Dr. Münir Kiper ASLAN'a teşekkür ederim. Ayrıca Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi Tüp Bebek laboratuvarında geçirdiğim 3 sene boyunca öğretmekten yorulmayan, her gün işimi severek yapmamı sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇAKIR'a, Biyolog İlknur YAVAŞ'a ve haftasonları bile benimle çalışan, her zaman ilerlememi destekleyen, gece, gündüz, tatil demeden her koşulda eğlenerek çalıştığımız Yüksek Lisans Öğrencisi Selahattin EMİROĞLU'na teşekkür ederim.

Laboratuvar imkanlarını esirgemeyen ve tecrübeleriyle yol gösteren Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet CANSEV'e ve Öğretim Görevlisi Gülce SEVDAR ÇEÇEN'e; Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ayşen ÇAKIR'a teşekkür ederim.

Son olarak, beni bugünlere getiren, ülkesine faydalı bir evlat olarak yetiştiren, her kararımı destekleyen, benim için her türlü fedakarlığı yapan canım aileme; annem Sevcan MUTLU' ya, babam Şerif MUTLU' ya ve kardeşim Mehmet Kerem MUTLU' ya sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca ailemden biri gibi olan, bu süreçte ailemden çok vakit geçirdiğim, her konuda bana destek olan ve pes etmememi sağlayan Selahattin EMİROĞLU'na teşekkür ederim. İyi ki benim ailemsiniz.

10. ÖZGEÇMİŞ

tarihinde doğdu. Lise öğrenimini Bursa Atatürk Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2017 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünü kazandı. 2021 yılında mezun olduktan sonra, aynı yıl Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, Üreme Biyolojisi ve Klinik Embriyoloji yüksek lisans programına başladı. 2024 yılında Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'na Araştırma Görevlisi olarak atanmış olup, halen bu görevine devam etmektedir.