

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

PREPUBERTAL DÖNEMDEKİ DIŞI SIÇANLARA KRONİK
ASPROSİN UYGULAMASININ PUBERTEYE GEÇİŞ VE ÜREME
SİSTEMİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ
Dr. Zeynep Dila ÖZ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Emine KAÇAR

ELAZIĞ
2024

TEŞEKKÜR

Bilgi ve tecrübesinden her alanda destek aldığım, tezimi hazırlama sürecinde bana yol gösterip tüm özverisiyle yardımcı olan kendisiyle çalışmaktan onur duyduğum tez danışmanım Doç. Dr. Emine KAÇAR'a minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Her fırsatta eğitim ve öğretime öncelik vererek bilgi ve deneyimlerini paylaşan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR, Prof. Dr. Mete ÖZCAN, Prof. Dr. Sinan CANPOLAT ve Doç. Dr. İhsan SERHATLIOĞLU'na ve teşekkürlerimi sunarım.

İhtisas süresince bana desteklerini esirgemeyen her daim yardımlaşma içinde olduğumuz başta Dr. Öğretim Üyesi Nazife ÜLKER ERTUĞRUL, Uzman Dr. Münevver Gizem HEKİM, Ferah BULUT ve Mehmet Rıdvan ÖZDEDE olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca sevgileri, ilgileri ve güvenleriyle her zaman yanımda olan değerli aileme, kıymetli eşim Uzman Dr. Burak Muhammed ÖZ'e ve biricik kızım Işıl Beren ÖZ'e sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı ile 220S744 numaralı "Asprosin Hormonunun Üreme Sistemi Üzerindeki Fizyolojik Etkilerinin *in vivo* ve *in vitro* Yöntemler ile Araştırılması" isimli proje kapsamında destekleyerek uzmanlık tezimin gerçekleşmesini sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Puberte, neonatal dönemden itibaren hareketsiz olan karmaşık bir nöroendokrin ağın aktive olmasıyla başlar, akabinde cinsel olgunluğa ulaşılır ve üreme yeteneği kazanılır. Mevcut araştırmalar vücut yağ dokusunun bu aktivasyon sürecinde kritik bir görevi olduğunu göstermektedir. Yağ dokusunun enerji rezervi olmanın ötesinde; aktif bir endokrin organ olduğu ve adipokin adı verilen hormonları salgıladığı uzun zamandır bilinmektedir. Adipoz dokunun pubertal süreçle ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda adipokinlerin de üreme fizyolojisinde potansiyel bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Yeni keşfedilen bir adipokin olan asprosinin dişi üreme fizyolojisi üzerindeki etkisi bilinmemektedir.

Bu tez çalışmasının amacı asprosin hormonunun dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma, üreme sistemi bileşenleri, cinsel motivasyon ve davranış üzerindeki fizyolojik rolünü ortaya çıkarmaktır. Ayrıca olfaktör reseptör aracılığıyla etki eden asprosin hormonunun koku alma performansına etkisini göstermektir.

Tez çalışması kapsamında 24 adet Sprague Dawley ırkı dişi sıçan (n=12 kontrol grubu, n=12 asprosin grubu olmak üzere) kullanılmıştır. Yapılan deneylerde asprosin grubundaki hayvanlara postnatal 21. günden itibaren 8 hafta boyunca intraperitoneal (i.p.) olarak asprosin (500ng/kg/gün), kontrol grubundaki hayvanlara ise aynı şekilde asprosinin çözücüsü olan serum fizyolojik uygulanmıştır. Deney sürecinde puberteye giriş tayini ve östrus siklus takibi yapılmıştır. Akabinde saklı kurabiye testi, seksüel insentif motivasyon testi ve cinsel davranış testi gerçekleştirilmiştir. Deneyin sonlandırılmasıyla ovaryum dokusunda histolojik incelemeler ve serum örneklerinden ELISA (enzim bağlantılı immunosorbent analizi) yöntemiyle hormon düzeyleri tayin edilmiştir. Verilerin analizinde SPSS 22 paket programı kullanılmış olup anlamlılık değeri $p \leq 0.05$ olarak alınmıştır.

Deneyel çalışmaların sonucunda, kronik asprosin uygulamasının puberteye giriş zamanını değiştirmediği ancak üreme fizyolojisinin temel bir unsuru olan ilk östrus fazını erkene çektiği gösterilmiştir. Yapılan davranış testleriyle de asprosin hormonunun koku alma performansını, cinsel motivasyonu ve cinsel davranış için önemli bir parametre olan aktif araştırmayı artırdığı gösterilmiştir. Bununla beraber

ovaryum dokusunda histolojik değişiklikler meydana getirerek primer ve sekonder folikül sayılarında artış sağlamıştır. Akabinde yapılan serum analizleriyle Folikül Stimulan Hormon (FSH), Östrojen ve Oksitosin gibi üreme fizyolojisinde kritik görevleri olan hormonların düzeyini arttırdığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda üreme fizyolojisi üzerindeki potansiyel etkisi ilk kez bu tez çalışmasıyla incelenmiştir. Ayrıca olfaktör reseptör (OLFR734) aracılı etki eden bu hormonun dişi sıçanlardaki koku performansını artırıcı etkisi de ortaya koyulmuştur. Bu çalışma, asprosinin dişi üreme fizyolojisinde önemli rol oynadığına dair güçlü kanıtlar sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Asprosin, cinsel motivasyon, cinsel davranış, üreme sistemi, koku performansı

ABSTRACT

Puberty begins with the activation of a complex neuroendocrine network that has been dormant since the neonatal period, followed by the attainment of sexual maturity and reproductive ability. Recent researches suggest that body adipose tissue plays a critical role in this activation process. It has long been known that adipose tissue is more than an energy reserve, it is an active endocrine organ and secretes hormones called adipokines. Considering the association of adipose tissue with the pubertal process, it is thought that adipokines may also have a potential effect on reproductive physiology. The effect of asprosin, a newly discovered adipokine, on female reproductive physiology is unknown.

The aim of this thesis is to reveal the physiological role of asprosin hormone on pubertal maturation, reproductive system components, sexual motivation and behavior in female rats. Also, to show the effect of asprosin hormone acting through olfactory receptor on olfactory performance.

Within the scope of the thesis study, 24 female Sprague Dawley rats (n=12 control group and n=12 asprosin group) were used. In the experiments, asprosin (500ng/kg/day) was administered intraperitoneally (i.p.) to the animals in the asprosin group for 8 weeks starting from the 21st postnatal day, and saline, the solvent of asprosin, was administered to the animals in the control group. During the experimental period, pubertal entry determination and estrous cycle monitoring were performed. Subsequently, the hidden cookie test, sexual incentive motivation test and sexual behavior test were performed. At the end of the experiment, histological examinations were performed on ovarian tissue and hormone levels were determined from serum samples by ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) method. SPSS 22 package program was used for data analysis and significance value was taken as $p \leq 0.05$.

As a result of the experimental studies, it was shown that chronic asprosin administration did not change the time of puberty onset, but it was shown that the first estrus phase, which is a basic element of reproductive physiology, was earlier in asprosin group. Behavioral tests have also shown that asprosin hormone increases olfactory performance, sexual motivation and active investigation, which is an important parameter for sexual behavior. In addition, it caused histological

changes in ovarian tissue and increased the number of primary and secondary follicles. Subsequent serum analysis showed that it increased the levels of hormones with critical roles in reproductive physiology such as Follicle Stimulating Hormone (FSH), Estrogen and Oxytocin.

In conclusion, the potential effect of asprosin administration on reproductive physiology in female rats was examined for the first time in this thesis study. In addition, the olfactory performance enhancing effect of this hormone, which acts through olfactory receptor (OLFR734), was also revealed. This study provides compelling evidence for the involvement of asprosin in female reproductive physiology.

Keywords: Asprosin, sexual motivation, sexual behavior, reproductive system, olfactory performance

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
DEKANLIK ONAYI.....	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
KISALTMALAR	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Üreme Fizyolojisi	1
1.1.1. Puberte Fizyolojisi	1
1.1.1.1. Puberte tanımı	1
1.1.1.2. Pubertenin nöroendokrinolojik olarak düzenlenmesi.....	1
1.1.1.3. Pubertenin metabolik olarak düzenlenmesi.....	5
1.1.1.4. Dişi sıçanlarda pubertal gelişim	6
1.1.2. Cinsel Davranış.....	7
1.1.2.1 Sıçanlarda cinsel davranış	8
1.1.2.1.1. Dişi sıçanlarda cinsel davranış	10
1.1.2.1.1.1. Uyarıcı davranış	10
1.1.2.1.1.2. Çiftleşme öncesi davranış.....	11
1.1.2.1.1.3. Tamamlayıcı davranış	11
1.1.2.2. Cinsel davranışta koku duyusunun rolü	13
1.1.2.2.1. Koku fizyolojisi	13
1.1.2.2.2. Koku duyusunun önemi.....	14

1.1.2.2.3. Koku ve cinsel davranış ilişkisi.....	14
1.1.3. Pubertal Gelişim ve Üreme ile İlişkilendirilen Adipokinler.....	16
1.2. Asprosin Hormonu.....	21
1.2.1. Asprosin Hormonunun Tarihçesi.....	21
1.2.2. Asprosinin Biyokimyasal Yapısı.....	23
1.2.3. Asprosinin Reseptörü.....	24
1.2.4. Asprosinin Sentezi ve Salgılanması.....	24
1.2.5. Asprosinin Fizyolojik ve Metabolik Rollerini.....	25
1.2.6. Tez Çalışmasının Amacı.....	27
2. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
2.1. Asprosinin Puberteye Geçiş ve Üreme Sistemi Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması.....	30
2.1.1. Deney Hayvanları.....	30
2.1.2. Deney Grupları ve Asprosin Uygulaması.....	30
2.1.3. Puberteye Geçiş Takibi.....	31
2.1.4. Östrus Siklusunun Takibi.....	31
2.1.5. Saklı Kurabiye Testi.....	31
2.1.6. Cinsel Fonksiyonun Değerlendirilmesi.....	32
2.1.7. Deneyin Sonlandırılması.....	35
2.1.8. Hormon Analizleri.....	35
2.1.9. Histolojik Değerlendirmeler.....	37
2.1.10. İstatistiksel Analiz.....	38
3. BULGULAR.....	39
3.1. Kronik Asprosin Uygulamasının Puberte Zamanlaması Üzerindeki Etkileri.....	39
3.2. Kronik Asprosin Uygulamasının Östrus Siklusu Üzerindeki Etkileri.....	39

3.3. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Saklı Kurabiye Testi Üzerindeki Etkileri	40
3.4. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Seksüel İnsentif Motivasyon Testi Üzerindeki Etkileri	41
3.5. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Aktif Araştırma Üzerindeki Etkileri	43
3.6. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Cinsel Davranış Testi Üzerindeki Etkileri	44
3.7. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Serum Hormon Seviyeleri Üzerindeki Etkileri	45
3.8. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Over Histolojisi Üzerindeki Etkileri	48
4. TARTIşMA	50
4.1. Kronik Asprosin Uygulamasının Puberte Üzerine Etkileri	50
4.2. Kronik Asprosin Uygulamasının Koku Alma Performansı Üzerine Etkileri	52
4.3. Kronik Asprosin Uygulamasının Cinsel Motivasyon ve Davranış Üzerine Etkileri	54
4.4. Kronik Asprosin Uygulamasının Ovaryum Dokusu Üzerine Etkileri.....	58
5. KAYNAKLAR	62
6. ÖZGEÇMİş.....	91

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Histolojik takip işlem basamakları.	37
Tablo 2. Over dokusuna ait farklı gelişim aşamalarındaki folikül sayıları	49

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1:	Hipotalamik gonadal aks ve pubertenin nöroendokrin düzenlenmesi .	2
Şekil 2:	Erkeklerde ve kadınlarda ergenliğin başlangıcında hormonal düzenleme.....	5
Şekil 3:	Cinsel uyarılma ve cinsel inhibisyon mekanizmaları.....	8
Şekil 4:	Sıçan cinsel davranışın farklı bileşenleri	9
Şekil 5:	Lordozis tepkilerinin yoğunluğu. Marjinal lordozis için verilen puan 1, normal lordozis için verilen puan 2, abartılı bir lordozis için verilen puan 3'tür. Erkek sıçan kesik çizgi ile gösterilmiştir	12
Şekil 6:	Dişi cinsel davranışının hormonal kontrolü.	13
Şekil 7:	Kadınlarda puberte başlangıcını etkileyen adipokinler.	19
Şekil 8 :	NPS hastası vücut ve ekstremitelerdeki görüntüleri.	22
Şekil 9:	Asprosin üretmek için pro-fibrilinin bölünmesi. Asprosin, Fibrillin-1	23
Şekil 10:	Gerçekleştirilen çalışmaların şematik gösterimi	29
Şekil 11:	A) saklı kurabiye testi aparatı, B) talaş yüksekliği ölçümü.....	32
Şekil 12:	Seksüel insentif motivasyon testi aparatı	33
Şekil 13.	Kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri. Kontrol ve asprosin gruplarında; ..	39
Şekil 14:	Dişi sıçanlarda kronik asprosin maruziyetinin ilk östrus yaşı ve östrus döngüsüne etkileri.	40
Şekil 15:	Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının saklı kurabiye bulma süresi üzerine etkisi.	41
Şekil 16:	Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının seksüel insentif motivasyon üzerindeki etkileri.....	42
Şekil 17:	Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının aktivite indeksi (merkez noktadan geçiş sayısı) üzerindeki etkisi.	43
Şekil 18:	Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının aktif araştırma üzerindeki etkileri.....	44
Şekil 19:	Kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansı üzerine etkileri.....	45

Şekil 20:	Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının serum üreme hormonu seviyeleri üzerindeki etkileri.....	46
Şekil 21:	Dişi sıçanlarda kronik i.p. asprosin enjeksiyonunun serum üreme hormonu seviyeleri üzerindeki etkileri.	47
Şekil 22:	Dişi sıçanlarda kronik i.p. asprosin uygulamasının serum hormon seviyeleri üzerindeki etkileri.....	48
Şekil 23:	Kontrol ve asprosin gruplarına ait over dokularının histolojik görünümü.	49

KISALTMALAR

FSH	: folikül stimulan hormon
OLFR 734	: olfaktör reseptör 734
i.p.	: intraperitoneal
ELISA	: enzim bağlantılı immuno sorbent analizi
HHG	: hipotalamik hipofizer gonadal
LHRH	: LH salgılatıcı hormon
GnRH	: gonadotropin salgılatıcı hormon
LH	: luteinize edici hormon
GnIH	: gonadotropin inhibitör hormon
GABA	: gamma-aminobütirik asit
NPY	: nöropeptid Y
VİP	: vazoaktif intestinal peptid
ARC	: arkuat çekirdek
AVPV	: anteroventral periventriküler çekirdek
ER	: östrojen reseptörü
MeA	: medial amigdala
MSS	: merkezi sinir sistemi
KS	: Kallmann Sendromu
HH	: hipogonadotropik hipogonadizm
AdipoR1	: adiponektin reseptörü tip 1
AdipoR2	: adiponektin reseptörü tip 2
VKI	: vücut kitle indeksi
TLR-4	: toll like reseptör 4
ADSF	: adiposit spesifik sekretuar faktör
PKOS	: polikistik over sendromu
SSS	: santral sinir sistemi
FBN1	: Fibrillin-1
NPS	: Neonatal Progeroid Sendromu
T1DM	: Tip 1 diabetes mellitus
T2DM	: Tip 2 diabetes mellitus
GDM	: gestasyonel diabetes mellitus

POMC	: pro-opiomelanokortin
AgRP	: agouti ile ilişkili peptit
OR4M1	: olfaktör reseptör 4M1
H&E	: Hematoksilen-Eozin
PN	: postnatal
AMH	: anti-müllerian hormon
İcv	: intra serebro ventriküler
OKS	: oral kontraseptif
cAMP-PKA:	siklik adenosin monofosfat-protein kinaz A
Gtex	: Genotip-Doku İfade Projesi
CDT	:Cinsel Davranış Testi
SİMT	:Seksüel İnsentif Motivasyon Testi
EHS	: Erkek hayvanın yanında harcanan süre
DHS	: Dişi hayvanın yanında harcanan süre
THS	: Toplam harcanan süre
EAS	: Erkek sıçanı araştırma süresi
DAS	: Dişi sıçanı araştırma süresi
TAS	: Toplam araştırma süresi

1. GİRİŞ

1.1. Üreme Fizyolojisi

1.1.1. Puberte Fizyolojisi

1.1.1.1. Puberte tanımı

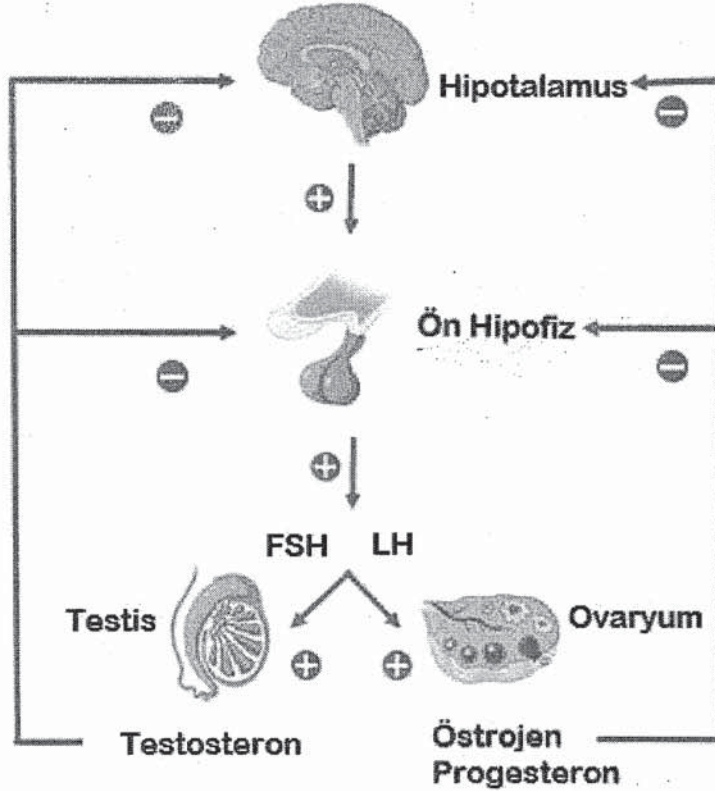
Puberte, primer ve sekonder cinsiyet özelliklerinde gözlemlenen değişikliklere yol açan koordineli nöroendokrin değişimlerin bir sonucu olarak ortaya çıkan karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, beyin ile endokrin sistem arasındaki etkileşimlerin düzenlenmesini kapsamaktadır. Meydana gelen olaylar dizisi onlarca yıldır bilinmekle beraber ilk olarak hayvan modellerinde yapılan araştırmalarla gözlemlenmiştir. Pubertal gelişim süreci çocukluk ve yetişkinlik arasında meydana gelmektedir ve beyinde hipotalamik hipofizer gonadal (HHG) ekseninin yeniden aktivasyonundan sonra başlamaktadır (1-3). Puberteye geçişle beraber sekonder cinsel özellikler ortaya çıkar, büyüme atağı başlar, gonadlar döllenme yeteneğine sahip olgun gametler (sperm veya oositler) üretmeye başlar ve beraberinde psikolojik değişiklikler meydana gelir (4). Pubertal gelişimin akabinde fizyolojik olarak cinsel olgunlaşma ve devamında üreme yeteneği kazanılmaktadır (5).

1.1.1.2. Pubertenin nöroendokrinolojik olarak düzenlenmesi

Son yirmi yılda, pubertenin hipotalamik bir dekaeptit olan LH salgılatıcı hormonun (LHRH, GnRH olarak da adlandırılır) pulsatil salınımı arttığına başladığı anlaşılmıştır (4, 6, 7). Yaşamın ilk yılında, Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (Gonadotropin Releasing Hormone [GnRH]) puls üreteci inaktif hale gelir ve puberte başlangıcından önce yeniden etkinleşene kadar inaktif halde kalır. Pubertenin makroskobik olarak gözlenebilen değişikliklerinin belirgin hale gelmesinden bir yıl kadar önce, hipotalamusun median eminensinden pulsatil GnRH salgılanmasının yeniden aktivasyonu gerçekleşir. Buna karşılık, GnRH hipofiz bezini gonadotropinleri (luteinizan hormon [LH] ve folikül stimulan hormon [FSH]) salgılaması için uyarır ve bu gonadotropinler öncelikle uyku sırasında dolaşıma salınır (8). Gonadotropin sekresyonundaki artışın sonucunda

olgun gamet oluşur (sperm veya oosit) ve gonadal steroid sekresyonu (östrojen ve testosteron) gerçekleşir (9-11).

GnRH, nazal plaktan köken alan nöronlar tarafından sekrete edilen kısa bir peptittir, hem erkek hem de dişi üreme sisteminde en kritik rolü oynamaktadır. Hipofizyal dolaşıma doğrudan ulaşan sinir sonlanmaları tarafından sekrete edilmektedir ve anterior hipofizde yer alan hipofiz gonadotrop hücrelerindeki GnRH reseptörlerine bağlanarak etki eder (12). GnRH aktivitesi çocukluk döneminde düşüktür ve pubertede pulsatil sekresyon başlamaktadır. Bu pulsatil sekresyon normal reproduktif fonksiyon için anahtar role sahiptir. Çünkü daha önce hayvan ve insanlarda yapılmış olan çalışmalarda, GnRH sekresyonunun pulsatil bir şekilde gerçekleşmesinin FSH ve LH sekresyonunun sürdürülmesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (13-15). Hipotalamik gonadal aksın düzenlenmesi Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: Hipotalamik gonadal aks ve pubertenin nöroendokrin düzenlenmesi(16)

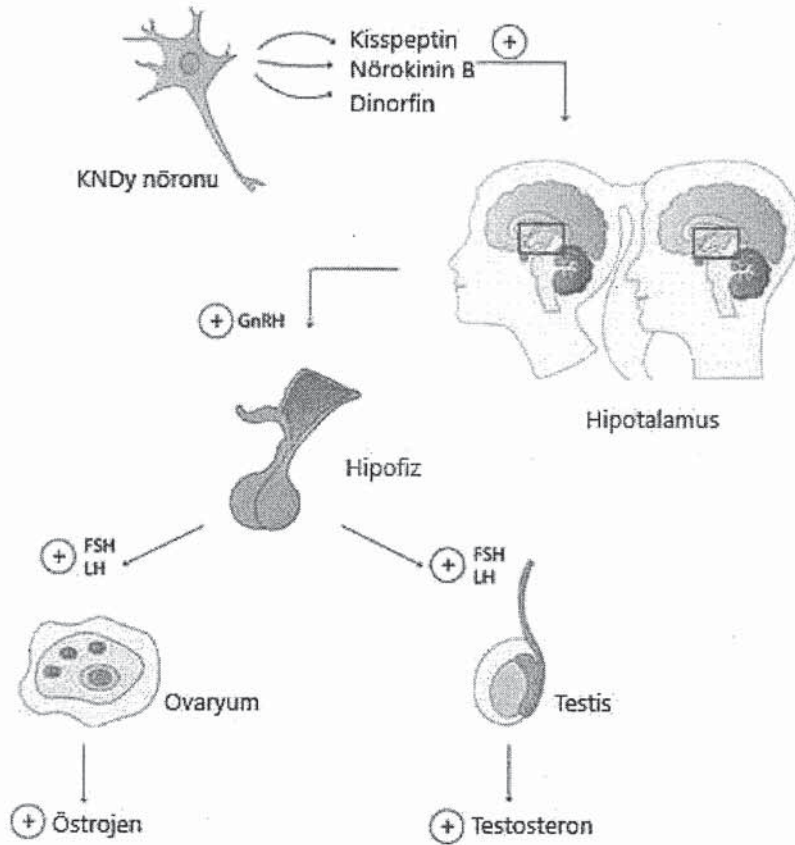
Pubertenin başlangıcı sadece bireyin yaşına bağlı olmayıp metabolizmadan, psikolojik ve çevresel faktörlerden de etkilenmektedir (9, 17). Literatürde GnRH salınımının kontrolünde rol oynayan çeşitli sinyal molekülleri olduğu gösterilmiştir ancak puberteye giriş mekanizması tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Sinyal moleküllerinin hipotalamik gonadal aks üzerinde uyarıcı ya da inhibe edici rolleri araştırılmıştır. Eksitatör ve inhibitör olarak kontrol edilen GnRH atım jeneratörü, puberte başlangıcında uyarıcı sinyallerin artması ve inhibe edici sinyallerin azalmasına bağlı olarak aktifleşir. Bu aktifleşmenin sonucunda GnRH salınımında artış meydana gelir (17, 18). Kontrol eden moleküller arasında; kisspeptin, gonadotropin inhibitör hormon (GnIH), gamma-aminobütirik asit (GABA), glutamat, nöropeptid Y (NPY), melatonin, vazoaktif intestinal peptid (VIP), nörokinin B, katekolaminler, serotonin ve opioidler gibi maddeler bulunmaktadır (18-20).

Üreme eksenine üzerine etkisi son derece önem arz eden kisspeptin, ilk olarak 1996 yılında melanom hücre dizilerinde bir metastaz inhibitörü olarak keşfedilmiştir (21). İnsanda dolaşımda en çok bulunan kisspeptin 14, 13 ve 10 amino asitlik peptitlere bölünebilen Kisspeptin-54'tür (22). Kisspeptin reseptörü, kisspeptinden 4 yıl sonra keşfedilen GPR54'tür (23). G-proteinine bağlı reseptörlerin rodopsin ailesinin bir üyesidir ve yapısal olarak galanın reseptörüne benzer (22, 24, 25). Kisspeptin reseptöre bağlandığında, fosfolipaz C aktive olur ve bu da sekonder hücre içi habercileri, inositol trifosfat ve diaçilgliserolü görevlendirir, bunlar da hücre içi kalsiyum salınımına ve protein kinaz C aktivasyonuna aracılık eder (26-28). Kisspeptin ekspresyonu ilk olarak plasentada yüksek seviyelerde gösterilmiştir (25, 26). Daha sonra testis, over, pankreas ve ince bağırsakta da gözlenmiştir (25, 29). Kisspeptin ve reseptörünün merkezi ekspresyonu da, kemirgenlerin hipotalamusunda arkuat çekirdek (ARC) ve anteroventral periventriküler çekirdekte (AVPV) gösterilmiştir (30).

Kisspeptin, nörokinin B ve dinorfin, hipotalamustaki KNDy nöronları olan özel nöronlar tarafından salınır (17). Kisspeptin nöronları, çeşitli türlerin hipotalamusunda GnRH nöronları ile yakın ilişki içinde bulunmaktadır (31, 32). Bu nöronlar, preoptik bölgedeki GnRH nöronlarının hücre gövdelerine ve GnRH sinir uçlarına yakın medyan çıkıntıya projekte olur (30, 31). Bunun yanı sıra GnRH

nöronları, kisspeptin reseptörünü eksprese eder (33, 34). Kisspeptinin, hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda GnRH salınımına yol açan GnRH nöronlarını uyardığı gösterilmiştir (27, 35, 36). Bu etki GnRH antagonistlerinin uygulanmasıyla inhibe edilir (37). Ayrıca, hem merkezi hem de periferik olarak kisspeptin uygulanması, hem hayvan hem de insan çalışmalarında dolaşımdaki LH düzeylerinde de bir artışa yol açmaktadır (30, 38-40). Çalışmalardan elde edilen bilgiler birlikte ele alındığında kisspeptinin, hipotalamustaki GnRH nöronlarını uyararak GnRH'yi hipotalamik-hipofiz portal dolaşımına salmasını ve ön hipofizden gonadotropin salınmasına neden olduğunu göstermektedir (41). Yakın zamanda yapılan bir çalışmayla, pubertal maymunlarda overektomi uygulaması sonucunda, kisspeptin kaynaklı GnRH salınımının ortadan kalktığı ve östradiol replasmanının kisspeptin kaynaklı GnRH salınımını kısmen iyileştirdiği gösterilmiştir. Bu veriler kisspeptinin GnRH sekresyonunu uyarması için östradiolün gerektirdiğini de göstermektedir. Daha yakın zamanda yapılan bir çalışmayla, pubertal gelişmenin olmadığı insanlarda kisspeptin geninde inaktive edici bir mutasyon rapor edilmiştir (42).

Özetle tüm veriler ele alındığında görülmektedir ki hipotalamik Kiss-1 geni tarafından kodlanan kisspeptin hormonu üreme aksının uyarıcısıdır ve üreme fonksiyonunda son derece önemli bir rol oynamaktadır. Kisspeptin, nörokinin B (NKB) ve dinorfin (dyn) gibi diğer nöropeptitlerle etkileşime girerek GnRH atım jeneratörünü düzenler. Kisspeptin, reseptörü olan GPR54 aracılığıyla GnRH sekresyonunu uyararak gonadotropin salınımını sağlar (43). Yapılan çalışmalar neticesinde kisspeptin/GPR54 sisteminin puberte başlangıcını tetiklediği gösterilmiştir (44). Kisspeptinin hormonal düzenlemedeki etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2: Erkeklerde ve kadınlarda ergenliğin başlangıcında hormonal düzenleme. Kisspeptin, nörokinin B ve dinorfin'in KNDy nöronlarından salgılanması, hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) salınımını başlatır. GnRH salınımı, luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) üretmek ve salgılamak için hipofiz bezini harekete geçirir; bu da kadınlarda ve erkeklerde sırasıyla östrojen ve testosteron üretmek için gonadları uyarır (45).

1.1.1.3. Pubertenin metabolik olarak düzenlenmesi

Puberteye geçişte metabolizma, vücut enerji rezervleri ve vücut yağ/kas kütlesinin son derece önemli rol oynadığı bilinmektedir (46). Vücut (özellikle yağ kütlesi ağırlığı) ergenlik başlangıcı için gerekli olan belirli bir eşik düzeye ulaştığında üreme işlevini düzenleyen hipotalamik nöronal ağ aktive hale gelmektedir (19, 47-49). Vücut bu kritik yağ ve/veya kas kütlesine ulaştığı zaman, metabolik sinyaller bu bilgiyi puberte başlangıcını yöneten hipotalamik nöronal ağa

iletir. Bununla birlikte, bu metabolik tetikleyicinin mekanizması hala net değildir. Daha önce yapılan çalışmalarda leptin, insülin, ghrelin gibi çeşitli metabolik hormonların vücut ağırlığı/metabolik durumla ilgili rolleri araştırılmış ve nöroendokrin üreme eksenini ile ilişkisi incelenmiştir (20, 50-54). Bu faktörlerin puberte başlangıcında ve yetişkin üremesinin düzenlenmesinde uyarıcı veya engelleyici rolü lehine veya aleyhine kanıtlar elde edilmiştir (18, 20, 51, 55-57). İnsanlarda ve diğer memeli türlerinde yapılan çalışmalarda, gıda yoksunluğunun puberteye geçişi geciktirdiği veya önlediği de bildirilmiştir (49). Yapılan bir çalışmada adipokinlerin memelilerde üremenin düzenlenmesinde aktif rol oynadığı gösterilmiştir (58). Artmış vücut ağırlığı ve yağ kütlesine bağlı olarak dişi sıçanlarda vajinal açılmanın ve östrus döngüsünün daha erken meydana geldiği tespit edilmiştir (59). Bir başka çalışmada ise vücut yağ oranı yetersiz olan kadınlarda, östrojen üretiminin normal seviyede olmadığı, buna bağlı olarak HHG eksen anormallikleri ve menstrual siküs bozuklukları meydana gelmiştir (60-62). Anoreksiya veya malnütrisyonu sahip bireylerde genellikle puberte başlangıcının gecikmesi veya gerçekleşmemesi sonucunda doğurganlığın bozulduğu görülmüştür (63). Bilindiği üzere üreme, türlerin devamlılığının sağlanması için gerekli bir süreçtir. Üreme fonksiyonunu başlatmak ve sürdürmek için belirli bir vücut yağ deposu eşliğinin de gerekli olduğu vurgulanmıştır. Bu nedenle, vücut yağ kütlesini etkileyen dolayısıyla puberte başlangıcında ve akabinde üreme kabiliyetinin kazanılmasında rol oynayan, hipotalamik nörohormonal ağ ile ilişkilendirebilen diğer potansiyel moleküllerin araştırılması son derece önem arz etmektedir.

1.1.1.4. Dişi sıçanlarda pubertal gelişim

Sıçanlarda puberte süttten kesildikleri dönemden yaklaşık 3-4 hafta sonra meydana gelmektedir. Bilindiği üzere hipotalamik hipofizer gonadal aks aktive olunca puberte başlamaktadır ve dişi sıçanlarda bu aktivasyonu indükleyen mekanizmaların aydınlatılması önem arz etmektedir (9, 64, 65). Sıçanlarda pubertal gelişim süresince GnRH atım frekansı, amplitüdü ve ortalama GnRH salınımında önemli bir artış gerçekleşir (66). Pubertal olgunlaşmanın dış belirteci dişi sıçanlarda vajinal kanalizasyonun meydana gelmesidir. Bir diğer önemli belirteç ise östrus döngüsü tayini ve ilk östrus fazının görülmesidir. Dişi sıçanlarda

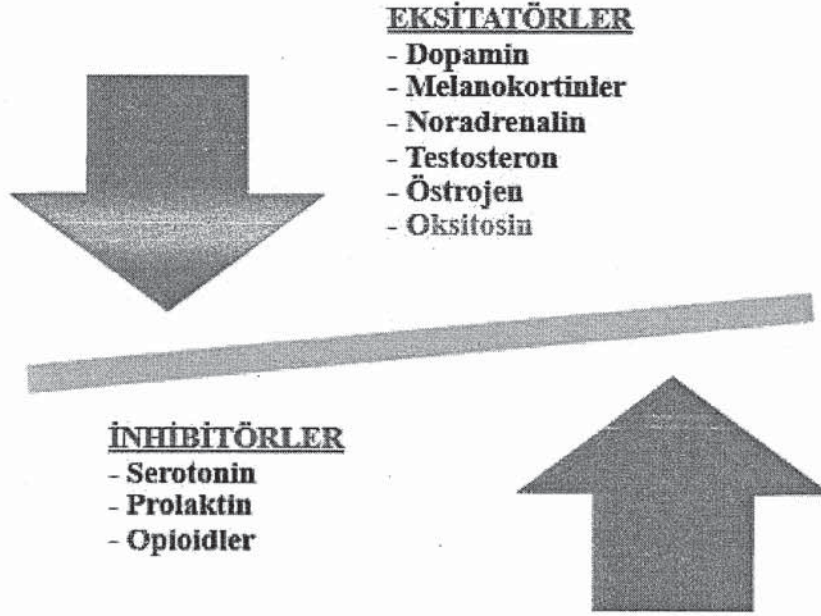
yapılan deneylerde puberte başlangıcının belirlenmesinde, östrojen salınımındaki artışa bağlı olarak vajinal açıklığın tayini sıklıkla kullanılan bir methoddur. Vajinal açılma (vajinanın tamamen kanalizasyonu) ile birlikte puberte başlar ve ilk üreme döngüsü olan östrus evresinin görülmesiyle birlikte devam eder. Vajinal açılma ile ilk östrus fazı arasındaki bu süre oldukça kısadır. İlk östrus evresinin görülme zamanı vajinal açılmayla aynı günde olabilmekle beraber yedi gün kadar sonra da gerçekleşebilmektedir (11, 67).

1.1.2. Cinsel Davranış

Cinsel davranış, insanlar da dahil olmak üzere böceklerden memelilere kadar tüm canlı hayvanların üremesindeki temel basamaktır (68). Cinsel uyarılar (görsel, işitsel, olfaktör ve taktıl uyarı) nöronal ağ ile merkezi sinir sistemine ulaşır. Üst beyin merkezlerinden alınan bilgi omurilik ve otonom sinir sistemi yoluyla genital organa iletilir ve bunun sonucunda erkeklerde peni ereksiyon ve dişilerde vajinal lubrikasyon/klitoris ereksiyonu gerçekleşir (69, 70). Cinsel motivasyon sonucu oluşan cinsel aktiviteyle birlikte üreme ve ödüllendirilme gerçekleşmiş olur. Cinsel aktivite, beyinde cinsel uyarılmaya yol açan steroid hormonların etkileri ile meydana gelmektedir (71). Dişiler ile erkekler arasındaki bu davranışsal değişikliklerin oluşumunda da steroid hormonlar önemli rol oynamaktadır. Erkeklerde testosteron, dişilerde ise östradiol ve progesteron cinsel davranışla ilişkili olan temel seks steroidleridir ve seviyeleri cinsiyetler arasında farklılık göstermektedir (72).

Cinsel tepkiler hormonal, nörokimyasal ve nöronal faktörler tarafından düzenlenir. Cinsel problemlerin teşhisi ve tedavisi için bu temel ilkelerin anlaşılması gereklidir. Cinsel tepkilerin modüle edilmesinde uyarıcı ve inhibe edici faktörlerin etkili olduğu da bilinmektedir. Norepinefrin ve oksitosin cinsel olarak uyarılmayı arttırmaları, melanokortinler ve dopamin cinsel arzuyu arttırmaktadır. Serotonin cinsel doyumunu düzenler, opioidler cinsel ödül mekanizmasına aracılık eder, endokannabinoidler ise sedasyona sebep olurlar. Cinsel uyarılma sırasında eksitatör etki gösteren nörokimyasalların aktivasyonu ile inhibitör etki azaltılmaktadır (71). Cinsel uyarıları işlemekten ve cinsel tepkileri ortaya çıkarmaktan sorumlu olan nöronal yapılar tanımlanmıştır. Bu ağlar serotonin geri

alım inhibitörleri, dopamin antagonistleri veya antiandrojenler gibi farmakolojik tedavilerle değiştirilir (73). Cinsel uyarılmanın ve inhibisyonunun mekanizmaları Şekil 3'te gösterilmiştir.



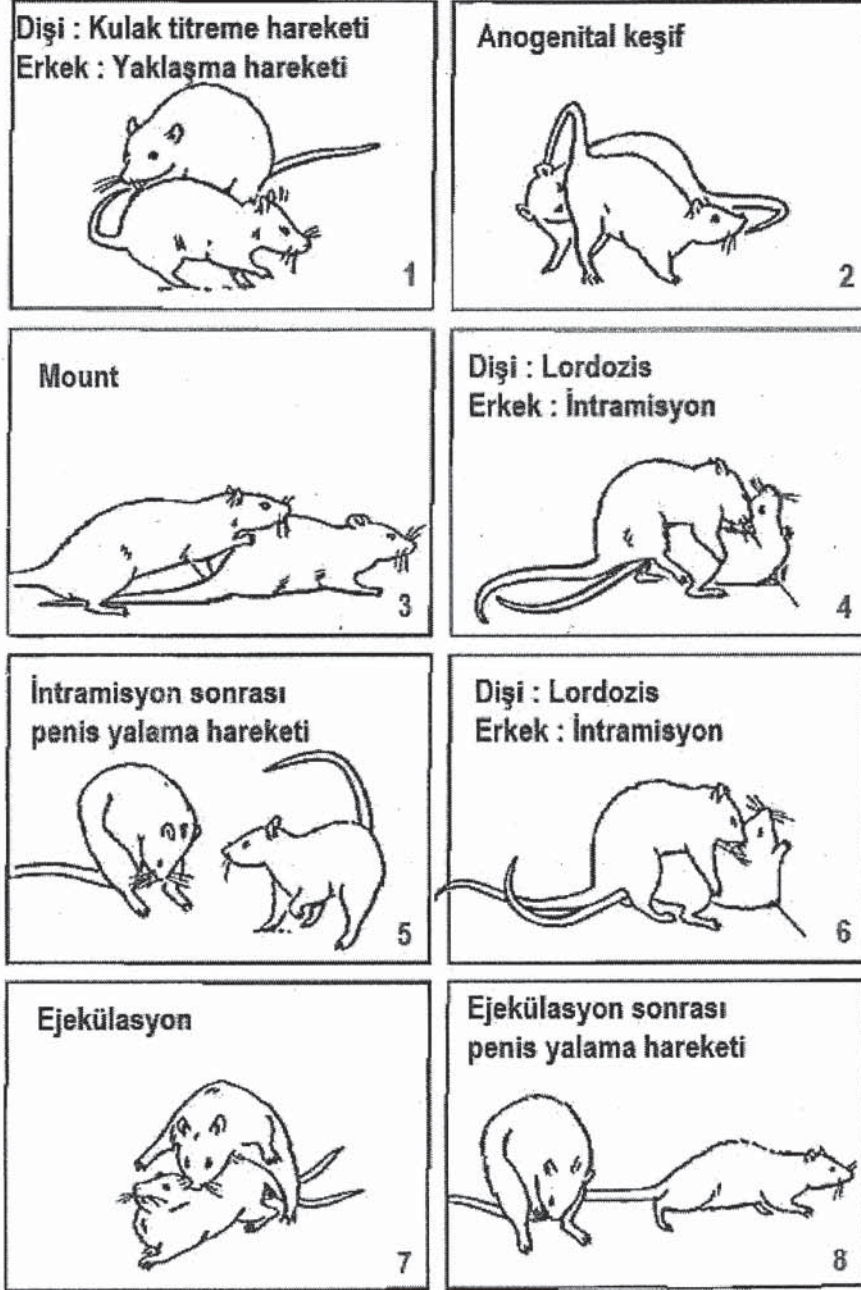
Şekil 3: Cinsel uyarılma ve cinsel inhibisyon mekanizmaları (73).

1.1.2.1 Sıçanlarda cinsel davranış

Hayvan modelleri cinsel davranıştaki fizyolojik değişiklikleri taklit etmek için sık kullanılan modellerdir. Popülasyona anlamlı bir şekilde genelleyebilmek amacıyla sıçanlarda cinsel motivasyon ve cinsel performans ölçülmektedir (74, 75). Sıçanların temin edilmesi ve barındırılmasının kolay olması ve davranışlarının etkin bir şekilde analiz edilebilmesi nedeniyle deney hayvanlarında cinsel davranış ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok sıçanlarda yapılmaktadır (76).

Sıçanlar partnerini etkilemek ve bunun sonucunda cinsel hazza ulaşmak için birçok davranış hareketi göstermektedir. Sıçanlar arasındaki bu karşılıklı etkileşim anogenital bölgeyi koklama (anogenital keşif) hareketi ile başlamaktadır. Anogenital bölgeyi koklama hareketi dişi ya da erkek sıçan tarafından başlatılabilen uyarıcı bir davranıştır (77). Dolayısıyla bu hareket cinsel davranışın ilk adımı olan

partnerin belirlenmesi ve tercihinde kokunun son derece önemli olduğunu göstermektedir (78). Cinsel davranışın çeşitli aşamaları sırasıyla Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4: Sıçan cinsel davranışın farklı bileşenleri (79).

1.1.2.1.1. Dişi sıçanlarda cinsel davranış

Dişilerde cinsel davranış, ovumun sperm tarafından döllenenmesini sağlamak için gerçekleşmesi gereken çeşitli davranışlar bütününden oluşan karmaşık bir süreçtir (80). Dişilerde gözlenen bu hareketler çoğunlukla seks steroid hormonlarının etkisiyle düzenlenmektedir. Ovaryan steroid hormonların (esas olarak östradiol) etkisine duyarlı olan beyin bölgelerindeki nöronların, medial preoptik alan ve ventromedial hipotalamik çekirdek dahil olmak üzere, dişilerde cinsel davranışının düzenlenmesinde yer aldığı düşünülmektedir (81, 82). Cinsel alıcılığın düzenlenmesinde rol alan östradiolün etki edebilmesi için beyin bölgelerindeki nöronlarda bulunan östrojen reseptörü (ER) esastır (83). Medial amigdala (MeA) da östrojen reseptörleri açısından zengin bir beyin bölgesi olup dişi cinsel davranışının düzenlenmesinde yer alan bir diğer önemli bölgedir (84).

Dişi sıçanlarda cinsel davranış genel olarak 3 aşamadan meydana gelmektedir:

1. Uyarıcı (appetitive) davranışlar
2. Çiftleşme öncesi davranışlar (hayvanın cinsel motivasyonu hakkında bilgi verir)
3. Tamamlayıcı davranış (hayvanın cinsel performansı hakkında bilgi verir)(77, 80, 81, 85, 86).

1.1.2.1.1.1. Uyarıcı davranış

Dişi sıçanın cinsel isteği ve cinsel olarak uyarılması ile ilişkili davranışlar uyarıcı (appetitive) davranışlar olarak nitelendirilmektedir. Bu davranış erkek hayvanı keşfetme amacıyla yapılmaktadır. Hayvanlar arasındaki cinsel temasın başlangıcında son derece önem arz etmektedir. (77). Uyarıcı davranışlar genellikle çiftleşme öncesi davranışlar (proseptif davranışlar) grubunda kategorize edilmektedir (87-89). Proseptif davranışlar, östrus fazındaki dişi tarafından sergilenen, erkeği çiftleşmeye teşvik eden ve çiftleşme modelini düzenleyen türe özgü karmaşık iştah açıcı faaliyetler dizisi olarak tanımlanabilir (90). Dişi sıçanın cinsel dürtüsünü ortaya koyan uyarıcı davranışlara; anogenital keşif (erkek hayvanın anogenital bölgesini koklama hareketi) örnek olarak gösterilebilir (87-

89). Dişilerde çiftleşme öncesi anogenital keşif hareketi; erkek hayvanın anogenital kokusuna yanıt olarak gerçekleşmektedir ve karşı cins koku tercihini gösterir (91).

1.1.2.1.1.2. Çiftleşme öncesi davranış

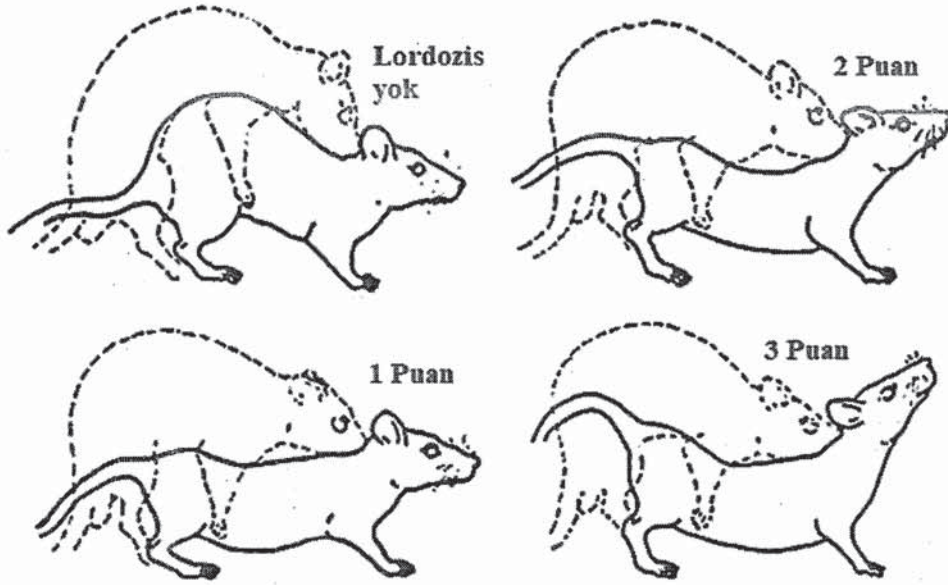
Cinsel olarak aktif olan östrus fazında olan dişi sıçanlar erkek hayvanla yana geldiğinde proseptif davranışlar olarak da adlandırılan çiftleşme öncesi davranışlar gerçekleşmektedir. Proseptif davranışlar temel olarak; kulak titretme, hoplama/ileri atılma (hopping/darting) ve alanda gezinme (pacing) davranışları olarak sınıflandırılır (90). Kulak titretme, kulakların görünür şekilde lateral yönde titremesi şeklinde gerçekleşen son derece hızlı bir davranıştır (Şekil 5'te gösterilmiştir). Hopping, dişinin 4 bacağı üzerindeki kısa sıçramasıdır. Darting ise dişinin birkaç adımlık koşusundan sonra aniden durması ve çömelme postürü almasıdır. Dişi sıçan hop/dart hareketlerini ardışık olarak gösterir ve bu davranış bir seri şeklindedir (92, 93).

1.1.2.1.1.3. Tamamlayıcı davranış

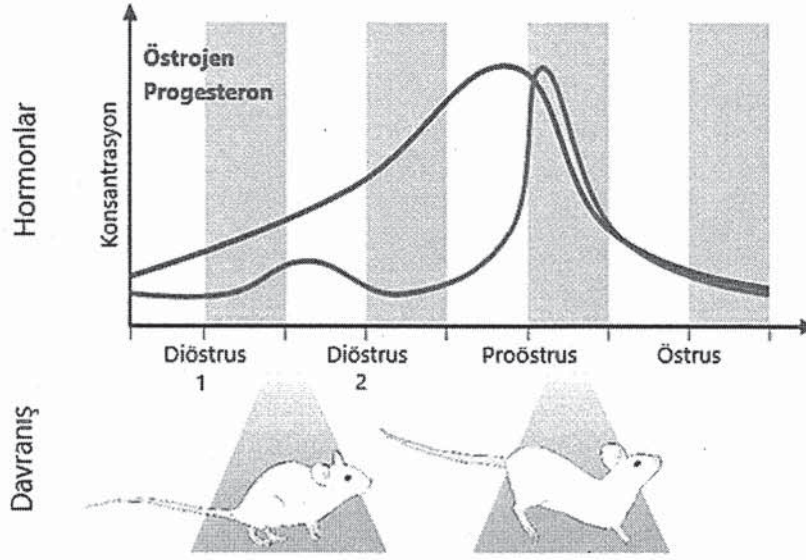
Dişi sıçanlarda cinsel davranışın son aşaması lordozistir. Lordoziste dişi hayvan dorsifleksiyon pozisyonunda durmaktadır. Lordozis ile beraber dişi hayvanın pelvisi yükselir ve akabinde penisin vajinaya penetrasyonu gerçekleşmiş olur. Proseptif davranışlar dokunmanın yanı sıra koklama refleksini içerirken lordozis yalnızca dokunma refleksini göstermektedir (89, 90, 92-94). Lordozis derecesi (lordozis yoğunluğu) 4 nokta skalasına göre hesaplanmaktadır. Bu skalaya göre lordosiz derecesinin 0 olarak kabul edildiği durum: dişi sıçanın erkek sıçanın göstermiş olduğu mount (dişinin sırt kısmına tırmanması) hareketine karşı lordozis göstermediği durumdur. Lordosiz derecesi 1: marjinal lordozis olarak ifade edilmekte olan en düşük lordozis hareketidir. Lordozis derecesi 2: normal lordozis olarak ifade edilir. Lordosiz derecesi 3: abartılı/aşırı lordozis davranışı olarak hesaplanmaktadır (95). Şekil 5'te 4-nokta skalasına göre belirlenmiş olan lordozis dereceleri gösterilmiştir.

Dişi sıçanların cinsel davranış çalışmalarında, hayvanın tamamlayıcı davranışını yani cinsel performansını değerlendirmek için kullanılan lordozis derecesinin yanı sıra lordozis oranı (seksüel reseptivite) da bir diğer parametre

olarak kullanılmaktadır. Erkek hayvanın mount hareketiyle beraber dişi hayvan lordozis postürünü alır ve bu lordozis oranı olarak ifade edilir. Lordozis oranı; lordozis cevap sayısı/mount sayısı x 100 (L/M x 100) olarak hesaplanır (68, 69). Lordozis oranındaki artışın uyarılmadaki artışın analoğu olduğu düşünülür (70). Dişi hayvanlardaki lordozis hareketine karşılık gelen östrus döngüsü fazı ve hormonal değişiklikler Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 5: Lordozis tepkilerinin yoğunluğu. Marjinal lordozis için verilen puan 1, normal lordozis için verilen puan 2, abartılı bir lordozis için verilen puan 3'tür. Erkek sıçan kesik çizgi ile gösterilmiştir (95).



Şekil 6: Dişi cinsel davranışının hormonal kontrolü. Östrus döngüsü (üstte) boyunca progesteron ve östrojendeki artış, dişi kemirgenlerin ovulasyon yakınında cinsel olarak alıcı olmasına neden olur (96).

1.1.2.2. Cinsel davranışta koku duyusunun rolü

1.1.2.2.1. Koku fizyolojisi

Koku, insan duyuları arasında en az anlaşılmış olan duydur. Bu durumun koku duyusunun öznel bir olay olması ve alt sınıf hayvanlarda kolaylıkla incelenememesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Koku duyusuna ait reseptör hücreleri aslında merkezi sinir sisteminden (MSS) köken almış bipolar sinir hücreleri olan olfaktör hücrelerdir. Her koku hücresinin koku veren kimyasal uyarılara yanıt oluşturan bölümü ise olfaktör silyumlarıdır. Koku maddesi olfaktör zarın yüzeyi ile temas ettiği zaman önce silyayı örten mukus içine yayılır ve daha sonra her silyumun zarında bulunan reseptör proteinlerine bağlanır.

Koku duyusunun erkeklere oranla kadınlarda daha güçlü olduğu ve ovulasyon zamanında en keskin hale geldiği söylenir. Koku hoş gitme ve hoş gitmeme duygusal niteliklere sahip bir duydur. Birçok hayvan türünde kokular

cinsel yönelimin ana uyarıcısıdır. Bu durum koku ile cinsel işlevler arasında yakın bir ilişki olduğunu göstermektedir (97).

1.1.2.2.2. Koku duyusunun önemi

Koku alma duyusunun birçok hayvan için varoluşsal öneme sahip olduğu iyi bilinmektedir (98). Koku alma sinyalleri yiyecek aramayı, çevresel yönelimi, sosyal organizasyonu ve üreme davranışını kontrol eder. Hayvanlar aleminden aşına olduğumuz bu özelliklerin birçoğu insanlara da aktarılabilir. (99). Buradan yola çıkarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, koku alma duyusunun insanlarda da çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Aslında her insanın hayatı bir koku alma eylemiyle başlar: sperm, olgun ovaryum hücresine giden yolu bulmak için bir koku izini takip eder. Olfaktör reseptörler sadece burunda değil, aynı zamanda insan spermatozoasının başında da bulunmaktadır (100). Overler veya onu çevreleyen hücreler, vadi zambağı gibi kokan bir koku sentezler ve sperm bu koku izini takip eder. Bu durum, gebe kalmayı veya doğum kontrolünü etkilemek için muhtemelen yeni perspektifler de açabilir. Literatürde yapılan çalışmalar toplu bir şekilde ele alındığında koku duyusunun üremenin ilk aşaması olan partner seçiminden son aşaması olan döllenmeye kadar etki eden bir duyu olabileceğini düşünmek mümkündür.

1.1.2.2.3. Koku ve cinsel davranış ilişkisi

Koku alma duyusundaki yetersizliğin hipogonadotropik hipogonadizm (HH) ile birlikteliği klinik olarak Kallmann Sendromu (KS) olarak tanımlanmaktadır (101). Embriyonik gelişim sırasında olfaktör plakodda oluşan GnRH nöronları, son hedefleri olan hipotalamusa ulaşmak için koku alma nöronlarının akson rehberliğini kullanmaktadırlar. Dolayısıyla KS hastalarında bu rehberlikte oluşan bozukluğun, GnRH nöronlarının yanlış yönlendirilmesine neden olduğu ileri sürülmektedir (102, 103). Bugüne kadar, bu nörogelişimsel süreci kontrol eden çok sayıda faktör tanımlanmış ve aksonal kılavuzlu göç yolunda 30'dan fazla gende nedensel mutasyonlar bildirilmiştir (104). Bu göçteki kusur sonucu gelişen Kallman Sendromunda anozminin yanı sıra cinsel işlev bozuklukları ve infertilite de görülmektedir (105). Dolayısıyla koku alma sistemi ile GnRH

arasındaki ilişki, koku ile cinsel davranış arasında da bir ilişkinin olabileceğini düşündürmektedir.

Koku, birçok canlıda cinsel davranışa aracılık eder ve hem karşı cinsten akranları tanımada hem de farklı bireylerin potansiyel eş olarak uygunluğunu değerlendirmede önemli rol oynar (46). Çeşitli çalışmalar, cinsiyet tanıma ve cinsel davranışın kontrolünde ana ve yardımcı koku alma sistemlerinin ayrı rollerini ele almıştır (47-49).

Hayvanlar, çiftleşirken uygun partneri seçmek ve üreme başarısını sağlamak amacıyla duyuşsal ve davranışsal stratejiler geliştirmiştir. Feromon adı verilen kimyasal ipuçları pek çok hayvanda türe ve cinsiyete özgü bilgileri taşır. Feromonların tespiti, hayvanların davranışsal ve endokrin durumunda değişikliklere yol açan fiziksel bağlantılı beyin devrelerinin aktivasyonunu tetikler (106). Aynı zamanda feromonlar, hayvanların sosyal olarak iletişim kurması için bir yol sağlar ve bunun yanında cinsel davranış güçlü bir şekilde teşvik edebilir veya bastırabilir (107). Koku alma sisteminin, çoğu memelide üreme fizyolojisi ve davranışında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Kemirgenlerde koku alma sistemi tarafından saptanan feromonlar erkek ve dişi cinsel davranışlarını uyarabildiği gibi üreme hormonlarının seviyesinde değişikliğe de yol açabilir (108). Feromonlar doğuştan gelen davranış güçlü bir şekilde uyarsa da davranışsal tepkinin türü; alıcının cinsiyetine, üreme fizyolojisine ve deneyimine bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, erkek kokuları diğer erkekler tarafından algılandığında koku işareti veya saldırgan davranış uyandırırken dişiler tarafından algılandığında cinsel alıcılığı teşvik etmektedir. Bunların yanı sıra dişilerde feromon tepkilerinin ovulasyon döngüsü boyunca değişiklik gösterdiği de tespit edilmiştir (109).

Cinsel davranışın ilk adımı olan partnerin belirlenmesi ve tercihinde kokunun son derece etkili olduğu ortaya konulmuş bir gerçektir (78). Deney hayvanlarıyla yapılan bir çalışmada kokunun cinsel davranış üzerinde potansiyel bir rol oynadığı gösterilmiştir (110). Bir başka çalışmada farelerin partnerlerini belirlerken feromonlar gibi koku alma ipuçlarıyla hareket ettiği gösterilmiştir (111). Yapılan incelemelerde görülmektedir ki koku alma sistemi, türe özgü kimyasal sinyaller olan feromonların algılanmasında son derece önemlidir (112). Feromonların hem üreme fizyolojisinde hem de cinsel davranışta etkili olduğu

ortaya konulmuştur (113). Yine dişi kemirgenlerde partner tercihi ve çiftleşme davranışı feromonlara bağlıdır ve bunun yanında üreme başarısını sağlamak için ovulasyon ile senkronizedir (114).

1.1.3. Pubertal Gelişim ve Üreme ile İlişkilendirilen Adipokinler

Yağ dokunun vücutta sadece enerji rezervi görevinin olmadığı aynı zamanda aktif bir endokrin organ olduğu ve adipokin adı verilen hormonları salgıladığı uzun zamandır bilinmektedir (115). Metabolizmayla ilgili çalışmalarla birlikte son yıllarda, adipoz dokunun puberte ve üreme üzerindeki etkilerine de ilgi artmaktadır (116). Adipokinlerin dişilerde ovulasyon ve ovaryan steroidogenez üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar son zamanlarda hız kazanmıştır (117). Ancak bu sistemi daha net aydınlatabilmek için, vücut yağ/kas kütlesi ile pubertal ağ ve akabinde kazanılan üreme fonksiyonu arasında bağlantı kurabilecek diğer potansiyel hormonların araştırılmasına ihtiyaç vardır.

Peptit yapıda bir hormon olan ve ob. geni tarafından kodlanan leptin, 16kDa ağırlığında olup tanımlanmış ilk adipoz sitokindir. Leptin hormonun 1994 yılında keşfi, yağ dokusunun endokrin rolüne ilişkin araştırmaları başlatmış ve diğer adipokinlerin keşfedilmesine öncülük etmiştir. Leptin düzeyi vücuttaki yağ depolarının miktarı ile doğrudan ilişkilidir ve ekspresyonu esas olarak beyaz yağ dokuda görülmektedir (118). Bu nedenle dolaşımdaki leptin seviyeleri beslenme durumuna göre değişmekte olup sirkadyen dalgalanmalar göstermektedir (119). Leptin kan-beyin bariyerini geçebilir ve hipotalamustaki belirli nöronlarda etki gösterebilir. Fizyolojik olarak dolaşımdaki leptin, metabolik durumun hassas bir yapıcısıdır ve sinyali kontrol merkezine (hipotalamusa) taşır. Leptin reseptörü (LepRb) ile bağlandıktan sonra leptin, periferik metabolik yükü hafifletmek için anoreksijenik ve termojenik fonksiyonlar uygular.

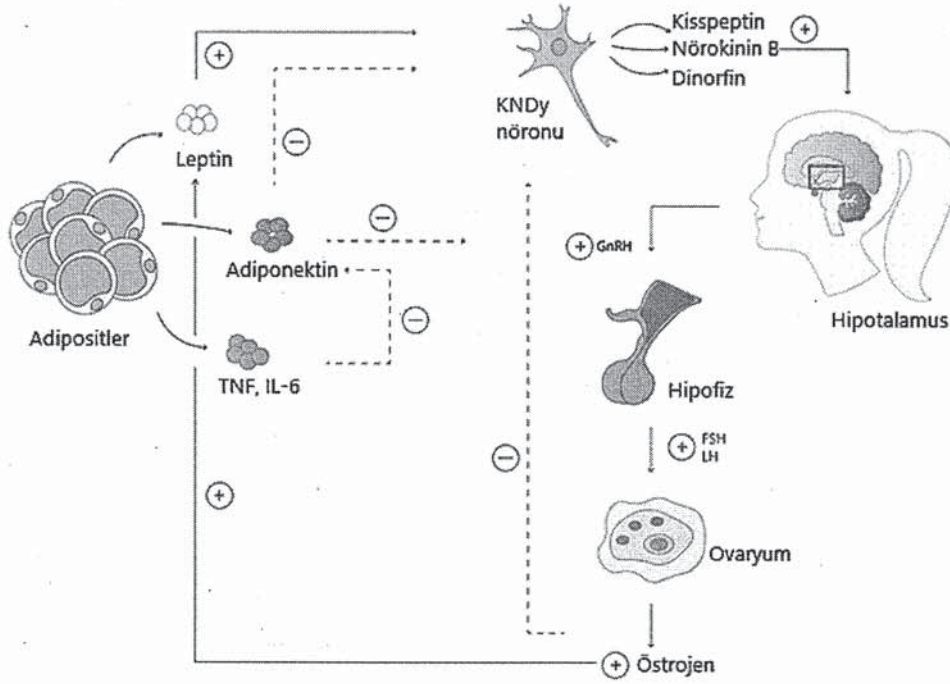
Farelerde yapılan bir çalışmada leptin eksikliğinin obeziteye neden olmasının yanı sıra infertiliteye de yol açtığı gösterilmiştir. Daha sonra deneklere leptin uygulanması ile vücut ağırlığının azalmasıyla beraber fertilitate de düzelmiştir (120, 121). Metabolik kontrole ek olarak leptin, pubertede GnRH nörosekresyonunun aktivasyonu için izin veren bir faktördür. Hipotalamik Kiss1 nöronları tarafından üretilen kisspeptinler, temel GnRH düzenleyicileridir ve leptin

eksikliğinin hipotalamik Kiss1 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. Leptin eksikliği olan kemirgen modellerinde leptinin eksojen uygulamasının Kiss1'i arttırdığı bulunmuştur (122). Yapılan klinik bir araştırmada ise, serum leptin seviyesinin santral puberte prekoks olan kızlarda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (123). Bir başka çalışmada yetersiz beslenen bireylerde, ergenliğin başlamasında bir gecikme ile leptin seviyelerinin de düşük olduğu tespit edilmiştir.

Obez bireylerde, yağ dokusu miktarındaki artış nedeniyle leptin konsantrasyonları yüksektir. Ancak bunun sonucunda, leptin direnci olarak adlandırılan bir fenomen gerçekleşir ve gıda alımı beklenen şekilde baskılanmaz ve enerji tüketimi beklenen miktarda artmaz (124). Leptin direncinde leptin sinyalinin geri bildirimini olmaması, Kiss1 ekspresyonunu sürekli uyarır ve kisspeptin salgılanması üzerindeki NKB ve Dyn modülasyonunun dengesini bozar (125). Bunlara ek olarak adipokin olan leptinin pubertede rol oynamasının yanı sıra dişi sıçanlarda cinsel davranış ve üreme üzerine de etkisi olabileceği gösterilmiştir (126).

Acrp30 olarak da bilinen adiponektin, esas olarak olgun adipositler tarafından salgılanan, aynı zamanda iskelet kasları, hipotalamus, hipofiz, over ve uterus gibi diğer dokularda da üretilen 224 aminoasitten oluşan bir proteindir (127-130). İnsanlar ve sıçanlar dahil olmak üzere çeşitli türlerde plazmada en fazla bulunan adipokindir (yaklaşık 1-50 µg/mL) (131, 132). Organizmada adiponektin etkilerine iki farklı reseptör aracılık eder: adiponektin reseptörü tip 1 (AdipoR1) ve adiponektin reseptörü tip 2 (AdipoR2)(133). Adipokinlerin çoğundan farklı olarak, plazma adiponektin konsantrasyonu vücut kitle indeksi (VKI) ve visseral yağlanma ile negatif korelasyon göstermektedir (134). Adiponektin için pek çok fonksiyon tanımlanmıştır; bu hormon enerji homeostazını, lipid metabolizmasını ve insülin duyarlılığını kontrol edebilir. Aynı zamanda gonadotropik eksen ve gonad fonksiyonlarını da düzenler. Böylece metabolik etkilerinin yanı sıra üreme fonksiyonlarını etkiler (135, 136). HHG eksen gibi kadın üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinden sorumlu yapılarda adiponektin ve reseptörlerinin varlığı, adiponektinin kadın doğurganlığının düzenlenmesinde rol oynayabileceğinin bir kanıtı olarak görülmektedir (137). Adiponektinin preovulatuvar değişikliklerin

başlatılmasında rol oynayabileceği ve ovaryan steroidogenez sürecini modüle edebileceği öne sürülmüştür. Prepubertal solungaçlardan alınan granüloza hücre kültüründe adiponektinin varlığı, siklooksijenaz-2, prostaglandin E sentaz ve vasküler endotelial büyüme faktörü genleri dahil olmak üzere over foliküllerinin yeniden şekillenmesiyle ilişkili genlerin ekspresyonunu uyarmıştır (138). Bir çalışmada, östrojen ve testosteron gibi üremede rol oynayan hormonların plazma adiponektin konsantrasyonunu düzenleyebileceği ileri sürülmüştür (139). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, adiponektin konsantrasyonlarının pubertal olgunlaşma boyunca değiştiği gösterilmiştir (140). Adiponektinin obezite derecesinden ayrı olarak fiziksel ve pubertal gelişimin klinik ve biyokimyasal parametreleri ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. Adiponektin düzeylerinin erkeklerde pubertal ilerlemeye paralel olarak düştüğü, ancak kızlarda bu kadar belirgin bir düşüş olmadığı görülmüştür. Pubertal gelişimin tamamlanmasından sonra erkeklerde adiponektin düzeylerinde azalmaya yol açtığı, fiziksel ve pubertal gelişime paralel olarak adiponektin seviyelerinde progresif bir düşüş olduğu gösterilmiştir. Bu düşüşün androjen seviyeleri ile güçlü ilişkisi olduğu için, yetişkinlerde görülen cinsiyet farklılıklarını açıklayabileceği düşünülmüştür (141). Kızlarda puberte başlangıcında etkili olan adipokinler Şekil 7’de gösterilmiştir (45).



Şekil 7: Kadınlarda puberte başlangıcını etkileyen adipokinler. Leptin, GnRH) üretmek için hipotalamusu aktive eden KNDy nöronlarında kisspeptin salınımını uyarır. GnRH'nin salınmasına yanıt olarak, hipofiz bezi FSH ve LH salgılar, bu hormonlar ovaryum dokusunu östrojen salınması için uyarır ve bu da kızlarda ikincil cinsiyet özelliklerinin oluşmasına neden olur. Östrojen leptin üretimini uyarır. Adiponektin, GnRH salınımını inhibe ederek GnRH düzeylerinin düşmesine ve böylece pubertenin gecikmeli başlamasına neden olur. TNF- α ve IL-6, adiponektin üretimini inhibe eder ve bu nedenle pubertenin başlamasını uyarır (45).

Visfatin, chemerin ve resistin dahil olmak üzere daha birçok adipokin beyaz yağ doku tarafından salgılanır (142-144).

Visfatin, organizmadaki çok yönlü etkisinden dolayı sitokin, enzim ve adipokin olarak kabul edilen 52 kDa'lık bir proteindir (145). Bazı bilim insanları visfatin etkisine insülin reseptör sinyal yolunu dahil etmişlerdir (146-148). Ayrıca, yakın zamanda yayınlanan veriler visfatinin, Toll like reseptör 4'ün (TLR-4) aktivasyonu yoluyla inflamasyon süreçlerine katılabileceğini de göstermektedir (149, 150). Tavuklarda, hindilerde, sığırlarda, farelerde ve insanlarda ovaryan yapılarda visfatin ekspresyonu kaydedilmiştir (132, 151). Erkek üreme sisteminde

de visfatin insan ve sıçan testislerinde ayrıca insan spermatozoasında eksprese edilir. Bu bulgular, sıçan spermatogenezi ve steroidogenezinde visfatinin rol oynadığını göstermektedir (152, 153). Visfatinle ilgili elde edilen bu bilgiler üreme fizyolojisinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Adipokin grubunun bir başka üyesi olan Chemerin, ilk olarak 2003 yılında iki bağımsız araştırma ekibi tarafından kemokin reseptörleriyle ilişkili bir GPCR olan kemokin benzeri reseptör 1'in (CMKLR1, ChemR23) doğal ligandı olarak tanımlanmıştır (154, 155). Chemerinin, insülin duyarlılığının modülasyonu ve gıda alımının düzenlenmesi, enerji homeostazisi ve yağ dokusu fonksiyonunun düzenlenmesi de dahil olmak üzere pleiotropik etkiler gösterdiği bulunmuştur (156, 157). Hormon ayrıca organizmada zıt, pro ve antiinflamatuvar etkiler göstermektedir. İnsanlarda beyaz yağ dokunun yanı sıra kahverengi yağ dokusunda, karaciğerde, akciğerlerde, böbreklerde, iskelet kaslarında, overlerde ve plasentada da hormonun ekspresyonu gösterilmiştir (158-160). İnsan kanında hormon konsantrasyonu 100 ila 200 ng/mL seviyelerindedir (161). Yapılan bir çalışmada domuzlarda plazma chemerin konsantrasyonu 70 ila 160 ng/mL seviyesinde belirlenmiş olup hayvanların fizyolojik durumuna (östrus siklusunun periyodu veya gebelik) bağlı olduğu gösterilmiştir. Östrus döngüsü sırasında domuzun hipotalamusunda değişken seviyelerde chemerin ekspresyonu gözlenmiş; erken ve orta luteal fazlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır (162). Chemerin ile ilgili araştırmalar üreme fizyolojisinde etkisi olabileceğini göstermektedir.

Adiposit spesifik sekretuar faktör (ADSF) olarak da bilinen resistin, inflamatuvar bölgelerde bulunan bir gen ailesine ait olup adipoz dokudan salgılanan, sistein açısından zengin, 108 amino asitlik bir salgı proteindir (163, 164). Resistin beyaz ve kahverengi yağ dokusu tarafından üretilir ancak aynı zamanda hipotalamus, hipofiz gibi diğer birçok dokuda da tanımlanmıştır (165, 166). İnsanlarda resistin büyük ölçüde adipositler tarafından eksprese edilir (167) ve morbid obez bireylerde serum düzeyi yükselmektedir (168). Ayrıca, obeziteyle ilişkili insülin direncinin yanı sıra adiposit farklılaşmasındaki rolünü gösteren bazı kanıtlar olmasına rağmen, resistinin işlevi tam olarak netleşmemiştir (164, 169). Son çalışmalarla resistin ile üreme fonksiyonu arasında yakın bir bağlantı olduğu gösterilmiştir. Maillard ve arkadaşları tarafından yürütülen yeni bir çalışma,

yetişkin sığır ve sıçan ovaryumunda resistin ekspresyonunun yanı sıra, resistinin prepubertal hayvanlarda over fonksiyonunun yeni bir düzenleyicisi olduğunu öne süren inhibitör etkisini ortaya koymuştur (170). Ayrıca, polikistik over sendromlu (PKOS) kadınlarda adipositlerdeki resistin ekspresyonunun sağlıklı kadınlara göre 2 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (171). Dafopoulos ve arkadaşları düzenli menstrual siklus gösteren kadınlarda serum resistin düzeylerinin değişmeden kaldığını göstermişlerdir; bu da adipositlerden resistin salgılanmasının seks steroidi düzeylerindeki dalgalanmalardan etkilenmediğini göstermektedir (172).

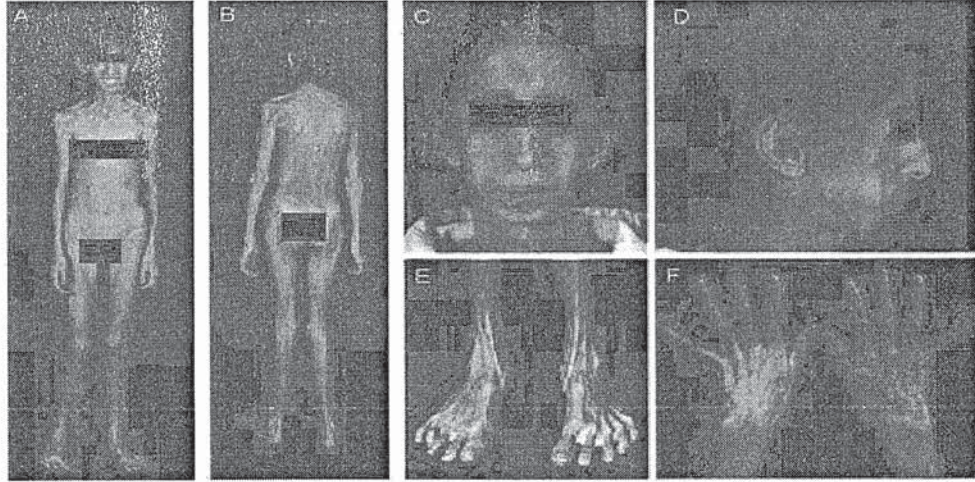
Asprosin ise, 2016 yılında Romere ve arkadaşları tarafından keşfedilen beyaz yağ doku tarafından salınan ve olfaktör reseptör üzerinden etkinlik gösteren bir adipokindir (173). Fibrillin-1 (FBN1), overde yapısal bir protein olarak işlev görürken protein ürünü olan asprosinin rolü bilinmemektedir. Asprosinin kadınlarda çeşitli metabolik parametreler ve cinsiyetle ilişkili hormonlarla ilişkili olduğu bilinmektedir (174). Maylem ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada asprosinin over foliküllerinin işlevini düzenleyen önemli bir faktör olabileceği öne sürülmüştür (175). Yağ dokunun puberte başlangıcındaki önemi bilinmektedir ve yeni araştırmalarla çeşitli adipokinlerin dişi üremesindeki rolleri aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Fakat beyaz yağ dokudan salınan asprosinin dişi üreme fizyolojisine nasıl bir etki ettiği henüz aydınlatılamamıştır. Buna bağlı olarak bu tez çalışmasının amaçlarından biri de asprosin hormonunun puberteye geçiş ve dolayısıyla hipotalamik gonadal eksen üzerindeki potansiyel rolünün açığa çıkarılmasıdır.

1.2. Asprosin Hormonu

1.2.1. Asprosin Hormonunun Tarihçesi

Asprosin hormonu ilk kez 2016 yılında Romere ve arkadaşları tarafından Neonatal Progeroid Sendromu (NPS) olan hastalarda tanımlanmıştır. Araştırma ekibi neonatal progeroid sendromu olan 2 hasta tanımlamış ve hastalardaki anormal durumu açıklamak için çalışmalar gerçekleştirmiştir. NPS yüzü ve ekstremiteleri etkileyen subkutan yağ ve vücut kas hacminde azalma ile karakterize, progeroid görünümün ön planda olduğu konjenital ve lipodistrofik bir hastalıktır (şekil 8). Lipodistrofik bozuklukların genellikle insülin direnci ile ilişkili oldukları

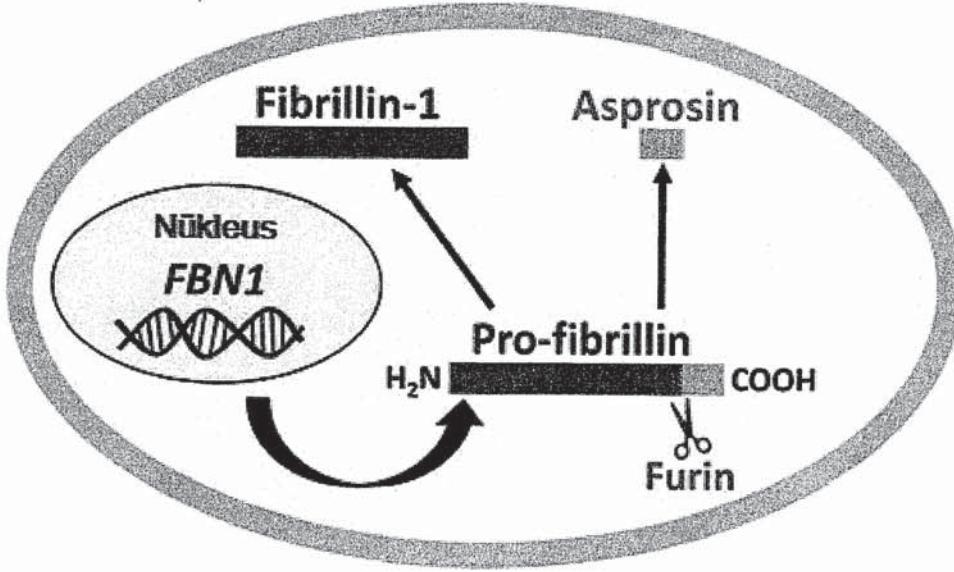
gösterilmiştir. Buradan yola çıkarak belirlenen NPS hastalarının glukoz ve insülin seviyeleri incelenmiştir. Gece açlığı sonrası hastalara yapılan tahliller sonucunda öglisemik oldukları saptanmıştır ve kontrol grubuyla kıyaslandığında insülin seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Romere ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmanın sonucunda lipodistrofiye rağmen NPS hastalarının insüline duyarlı olduklarını göstermiştir. Bunun yanı sıra 2 NPS hastasının tam ekzon ve sanger diziliminde profibrillin 1’de de novo, heterozigot 3’ kesik mutasyon olduğu tanımlanmıştır. Bu mutasyonun sonucu olarak Profibrillin tarafından kodlanan C-terminalin bölünme ürünü olan 140 aminoasitten oluşan asprosin hormonu keşfedilmiştir. Asprosin eksikliği olan hastalarda beyaz yağ dokuda azalma görüldüğü için beyaz yağ doku bir asprosin kaynağı olarak nitelendirilmiş olup asprosin kelimesi Yunancada beyaz anlamına gelen $\alpha\sigma\pi\rho\sigma$ kelimesinden türetilmiştir (173).



Şekil 8 : NPS hastası vücut ve ekstremiteler görüntüleri. Sekiz yaş hasta önden (A) ve arkadan (B) görünüşleri, azalmış subkutan (sc) yağ dokusu, azalmış kas hacmi, progeroid görünüm ve orantısız şekilde uzun ekstremiteler. On yedi yaş hasta yüzün daha yakından görünümü (C), ağız çevresindeki buruşuk cilt, yüzdeki azalmış sc yağ dokusu, yukarı doğru eğimli palpebral fissürleri. Yüzün yandan görünümü (D), psödoekzoftalmi ve boyunda azalmış sc yağ dokusu. Ayakların (E) ve ellerin (F) distal ekstremitelerde deri altı damarların ortaya çıkmasıyla sonuçlanan sc yağ dokuda belirgin azalma (173).

1.2.2. Asprosinin Biyokimyasal Yapısı

Asprosin, Fibrillin 1 (FBN1) geni tarafından kodlanan pro-proteinin (profibrillin) furin aracılı c-terminal bölünmesiyle fibrillin-1 (büyük, hücre dışı bir matris glikoprotein) ile birlikte üretilir (Şekil 9). Aslında, asprosinin amino asit dizisi , FBN1'in son iki ekzonu, yani ekson 65 ve 66 tarafından kodlanır (173). Memelilerde üretilen asprosin yaklaşık 30 kDa'dır ve 140 amino asitten oluşur. İnsan plazması, SDS-PAGE üzerinde ~30 kDa'da çalışan tek bir protein gösterirken, bakteriyel olarak eksprese edilen rekombinant asprosin ~17 kDa'da çalışır. Asprosinin, N-bağlantılı üç glikozilasyon bölgesine (treonin 8,9,10) ve potansiyel olarak bakterilerde eksik olan diğer translasyon sonrası modifikasyonlara sahip olduğu düşünülmektedir. Bu durum memeli asprosinini ve bakteriyel asprosin arasındaki moleküler ağırlık farkını açıklamaktadır (173).



Şekil 9: Asprosin üretmek için pro-fibrillinin bölünmesi. Asprosin, Fibrillin-1 (FBN1) geni tarafından kodlanan pro-proteinin (pro-fibrillin) furin aracılı c-terminal bölünmesiyle fibrillin-1 ile birlikte üretilir (asprosinin amino asit dizisi , son iki ekzon olan ekson 65 ve 66 tarafından kodlanır)(173).

1.2.3. Asprosinin Reseptörü

Li ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, G protein-bağlı reseptör (GPCR) olan Olfaktör Reseptör 743, farelerde asprosin reseptörlerinden biri olarak tanımlanırken, insan otologu olfaktör reseptörü 4M1 (OR4M1), dünyada birincil asprosin reseptörü olarak kabul edilmiştir. OLF734'ün hepatik glikoz üretimini modüle etmek amacıyla asprosin için bir reseptör olduğu ve bu reseptörün açlık ve obezite sırasında glukoz homeostazında anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. OR4M1 ve fare ortologu OLF734, olfaktör epitelyum, olfaktör bulbus, karaciğer, böbrek ve testiste eksprese edilen önceden tanımlanmış olfaktör reseptörleridir (173).

1.2.4. Asprosinin Sentezi ve Salgılanması

Romere ve arkadaşları Genotip-Doku İfade Projesi (GTex) RNaseq veri setini kullanarak insana ait tüm dokularda FBN1 mRNA profilini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda, en yüksek FBN1 mRNA ekspresyon seviyesine sahip olan dokunun beyaz yağ doku olduğunu ortaya koymuşlardır. Elde edilen sonuç asprosinin ana kaynağının yağ doku olduğunu göstermiştir. Asprosin için son derece önemli bir kaynak olan beyaz yağ dokunun yanı sıra FBN1 mRNA'nın akciğer, kalp dahil olmak üzere birçok organda daha yüksek oranda eksprese edildiği görülmüştür. Bu durum asprosinin beyaz adipositlerin yanında farklı üretim yerlerinin olabileceğini düşündürmektedir ancak netlik kazanmamıştır (173). Yapılan bir çalışmada submandibular ve parotis tükürük bezlerinin asprosin ekspresyonu yaptığı gösterilmiştir (176). Bir başka çalışmada ise erkek sıçanlarda hepatositlerde, böbrekte kortikal distal tübül hücrelerinde, kardiyomiyositlerde, mide fundusunun yüzey epitel hücrelerinde, testisin interstitial leydig hücrelerinde ve beyinin kortikal nöronlarında asprosin üretildiği bulunmuştur (177).

Asprosin, esas olarak açlık sırasında beyaz adipoz doku tarafından salgılanan bir adipokindir. Dolaşımdaki asprosin OLF734 reseptörü aracılığıyla karaciğere alınır ve karaciğerde G proteini-cAMP-PKA aktivasyonu ile dolaşıma hızlı bir şekilde glukoz salınmasını sağlar. Araştırmacılar aynı zamanda asprosinin cAMP'yi ikinci haberci olarak kullanarak hepatik glukoz üretimini uyardığını bulmuşlardır (173). Asprosin, kan-beyin bariyerini geçebildiği için periferik

dokulara etki etmesinin yanında santral sinir sistemi (SSS) üzerine de etki gösterebilir (178).

1.2.5. Asprosinin Fizyolojik ve Metabolik Roller

Asprosin başlangıçta merkezi etki göstererek plazma glukoz seviyelerini artırmak için hepatik glukoz salınımını uyaran oreksijenik bir hormon olarak tanımlanmıştır. Açlık sırasında düşen plazma glukoz seviyesine yanıt olarak dolaşımdaki asprosin seviyesi artar, toklukta ise asprosin seviyesi düşer. Asprosinin dolaşımdaki seviyesinin günlük değişimini incelemek amacıyla deney hayvanlarıyla yapılan bir çalışmada gece açlığı boyunca asprosin seviyelerinde artış olduğu gösterilmiştir. Beslenmenin başlamasının ise asprosin seviyelerinde ani bir düşüşe sebep olduğu bulunmuştur (173). Yapılan bir başka çalışmada ise asprosinin fare iskelet kası hücrelerindeki reseptörlere bağlanması ile PKC δ /SERCA2 aracılı endoplazmik retikulum stresini uyardığı ve bunu sonucunda insülin duyarlılığını negatif yönde etkilediği gösterilmiştir (179).

Asprosin ile serum glukoz seviyelerinin ilişkisinin gösterilmesinin ardından metabolik hastalıklar ve asprosin arasındaki ilişki araştırılmaya başlanmıştır. Tip 1 diabetes mellitus (T1DM), Tip 2 diabetes mellitus (T2DM) ve gestasyonel diabetes mellitus (GDM), DM'nin üç alt tipidir. Tüm bu tiplerde serum asprosinin arttığı bildirilmektedir (180, 181). Asprosinin T2DM'deki rolü ilk defa Zhang ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Yaptıkları çalışmada yeni tanı T2DM hastalarında dolaşımdaki asprosin konsantrasyonlarının önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir. İnsüline dirençli olan bu bireylerde asprosinin düzeyleri yüksek bulunmuştur (182). Bu nedenle asprosin, DM teşhisi için potansiyel bir biyobelirteç gibi görünmektedir ve yapılan çalışmalar toplu olarak incelendiğinde asprosin DM'nin başlamasında ve ilerlemesinde rol oynama olasılığının yüksek olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu hastalığın tedavisi için potansiyel bir terapötik hedef olabilir (183).

Merkezi sinir sisteminde hipotalamik arkuat çekirdekte asprosin reseptörleri bulunmaktadır ve asprosin oreksinerjik etki göstermektedir. Hipotalamus beslenmenin kontrol merkezidir. Anoreksijenik pro-opiomelanokortin (POMC) nöronları ve oreksijenik agouti ile ilişkili peptit (AgRP) nöronları ile iştahı modüle

etmektedir. Asprosin, iştah üzerindeki etkisini AgRP n6ronlarının genliğini arttırıp zar potansiyelini değiştirerek g6sterir. AgRP n6ronlarının aktivitesini G proteinleri-cAMP-PKA (siklik adenozin monofosfat-protein kinaz A) yolu ile uyarmaktadır. Bu sinyal, POMC n6ronlarının aktivitesini GABA'ya bağlı bir yolakla inhibe etmekte ve b6ylece gıda alımını uyarmaktadır (184). Ancak yapılan bir çalışmada rekombinant asprosinin AgRP n6ronlarının yaklaşık yarısının asprosine duyarlı olduğu g6sterilmiştir (184). Bu sonuç yalnızca belirli bir alt k6menin asprosin sinyalini iletmek için gerekli resept6rleri bulundurduğunu d6şündürm6ştir.

Asprosin iştah ilişkisi, asprosin ve obezite ilişkisinin araştırılmasına yol açmıştır. Yapılan alışmalar asprosinin obezitede 6nemli rol oynadığını g6stermiştir. Serum asprosin konsantrasyonlarının obez yetişkinlerde, çocuklarda ve farelerde anlamlı derecede arttığı ortaya konulmuştur (184-186). İns6lin direnci olan çocukların plazma asprosin seviyesi kontrol grubundaki çocuklara kıyasla daha y6ksek bulunmuştur (186). Bir başka çalışmada ise yetişkin obezlerdeki asprosin d6zeyindeki artışının aksine; ocuk obezlerde asprosin seviyesinin azaldığı g6sterilmiştir (187). Duerrschmid ve arkadaşları obez farelerde kan glukoz seviyesini iyileştirmek için monoklonal antikor ile plazma asprosin seviyesinin d6ř6rerek hem iştahu hem de v6cut ağırlığını azalttıklarını g6stermişlerdir (188).

PKOS, hiperandrojenemi, ovulatuar disfonksiyon ve/veya over polistik patolojisi 6zelliklerine sahip jinekolojik bir sendromdur. PKOS hastalarında ins6lin direnci ve dislipidemi gibi metabolik bozukluklar vardır (189). Serum asprosin seviyeleri PKOS hastalarında kontrol grubuna kıyasla daha y6ksek bulunmuştur (190). İkili lojistik regresyon analizine plazma asprosin konsantrasyonunun PKOS için bağımsız bir risk fakt6r6 olduğu g6sterilmiştir (191). Bu nedenle asprosinin, gelecekte PKOS'un yeni bir metabolik belirteci haline gelebileceği d6ř6n6lm6ştir. Leonard ve arkadaşları yaptığı çalışmada kadınlarda asprosin seviyesinin oral kontraseptif (OKS) kullanımına ve mensturel siklusun fazlarına g6re değiştiğini ortaya koymuşlarıdır. OKS kullananlarda plazma asprosin seviyesinin kullanmayanlara g6re daha d6ř6k olduğu tespit edilmiştir (192).

Asprosin ve erkek 6reme sistemi ilişkisini araştıran bir çalışmada, asprosin-OLFR734 sinyal ekseninin spermin ilerleyici hareketliliğini desteklediği ve fertilitelerini arttırdığı g6sterilmiştir. Erkek sıçanlarda yapılan bir çalışmada intra

serebro ventriküler (icv) olarak asprosin uygulamasının hipotalamo hipofizer testiküler aksı uyardığı gösterilmiştir. Ek olarak, asprosin tedavisinin, yaşlı farelerde sperm ilerleyici motilitesini, genç farelerdekiyle karşılaştırılabilir bir ölçüde eski haline getirebileceği bildirilmiştir. Bu durum, asprosin veya OLFR734 agonistlerinin üreme yeteneğini iyileştirmek için gelecekte potansiyel ajanlar olarak kullanılabilceğini düşündürmüştür (193).

1.2.6. Tez Çalışmasının Amacı

Yapılan çalışmalardan elde edilen veriler ışığında asprosinin hem metabolik süreçlerde hem de dişi üreme sistemiyle ilişkili rahatsızlıkların fizyopatolojisinde önemli bir role sahip olabileceği düşünülmektedir. Ancak asprosinin üreme aksının nöroendokrin kontrolündeki yeri henüz bilinmemektedir. Bu çalışmayla öncelikle bir adipokin olarak bilinen asprosinin dişi üreme sistemi üzerindeki fizyolojik etkilerinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir. Bu amaca yönelik olarak asprosinin puberteye geçiş, üreme sistemi, üreme hormonları ve over histolojisi üzerine etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Asprosinin etkisini göstermek için bir koku reseptörü olan OLFR734 reseptörüne bağlandığı bilinmektedir. Asprosinin erkek farelerde iştah ve koku alma duyusu üzerinde etkisi incelenmiştir ancak koku alma performansı üzerine etkisi dişi sıçanlarda daha önce çalışılmamıştır. Koku duyusunun cinsel davranış üzerinde potansiyel bir rolü olduğu da bilinmektedir. Buna karşın olfaktör reseptör aracılı etki gösteren asprosinin cinsel davranışla ilişkisi incelenmemiştir. Mevcut çalışmayla asprosin ve üreme-koku ilişkisinin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

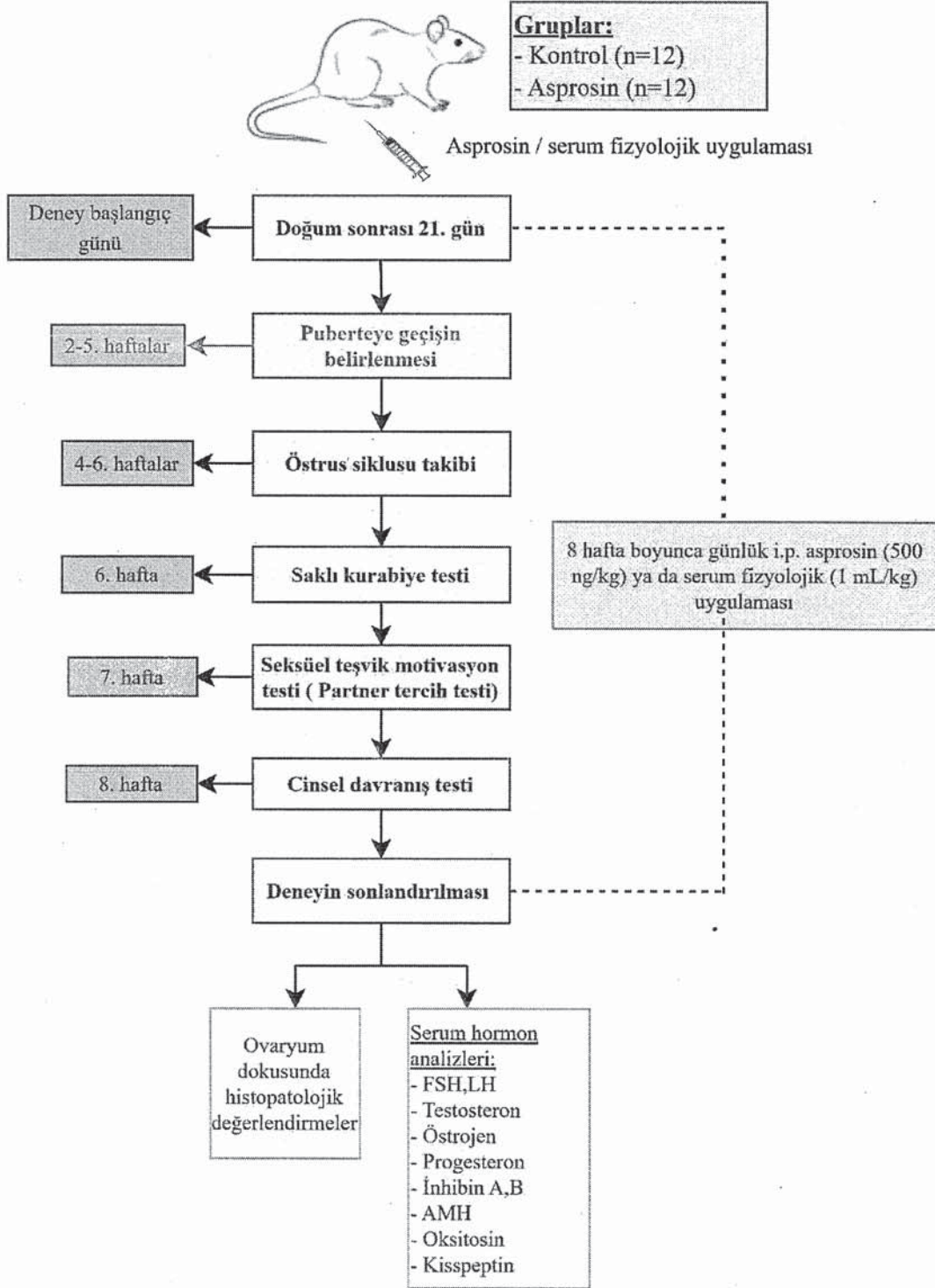
Bu veriler doğrultusunda tez çalışmasıyla Asprosin hormonunun dişi sıçanlarda;

- Puberteye geçiş/pubertal olgunlaşma (puberteye giriş günü, pubertal ağırlık, ilk östrus yaşı) üzerindeki rolünün belirlenmesi,
- Östrus siklusu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,
- Koku alma performansı üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,
- Cinsel motivasyon ve cinsel davranış üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,

- Üreme hormonları [FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron, anti-müllerian hormon (AMH), inhibin-A, inhibin-B, kisspeptin, oksitosin] ve asprosin serum seviyesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,

- Ovaryum üzerindeki histopatolojik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM



Şekil 10: Gerçekleştirilen çalışmaların şematik gösterimi

Yapılan çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 05.04.2023 tarih ve 2023/06-09 sayılı kararı ile etik yönden uygun

bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, dişi sıçanlarda gerçekleştirilen deneysel çalışmalarda:

- Asprosinin puberteye geçiş ve üreme sistemi üzerindeki etkinliği,
- Puberteye geçiş ve östrus siklusu takibi,
- Koku alma performansının değerlendirilmesi,
- Cinsel fonksiyonun değerlendirilmesi,
- Üreme hormonlarının seviyelerinin belirlenmesi,
- Üreme organlarında histolojik değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir.

Bu aşamada gerçekleştirilen deneysel çalışmalar ise Şekil 10'da gösterilmiştir.

2.1. Asprosinin Puberteye Geçiş ve Üreme Sistemi Üzerindeki Etkinliğinin Araştırılması

2.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan Sprague-Dawley ırkı dişi sıçanlar FÜDAM'dan temin edilmiştir. Toplam 24 adet dişi sıçan postnatal (PN) 21. günde ve ortalama vücut ağırlıkları 35 ± 2 gram olacak şekilde rastgele seçilmiştir. Sıçanlar, sıcaklığı (22-25 °C) ve bağıl nemi sabit tutulan (% 50-60) ve ışık düzeni 12 saat aydınlık/12 saat karanlık olan odalarda (07.00-19.00 zaman aralığında aydınlık faz) dörderli gruplar halinde barındırılmışlardır. Deney süresince, sıçanlar pelet halindeki özel sıçan yemi ve çeşme suyu ile ad libitum olarak beslenmişlerdir.

2.1.2. Deney Grupları ve Asprosin Uygulaması

Dişi sıçanlar kontrol ve asprosin gruplarını içeren 2 alt gruba ayrılmıştır. Deney grupları:

- 1) Dişi-kontrol grubu (n=12),
- 2) Dişi-asprosin grubu (n=12) olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilen sıçanlara seçildikleri günden itibaren (postnatal 21.gün) uygulanacak asprosin miktarını belirlemek amacıyla günlük (12.00-13.00

arasında) ağırlık takibi yapılmıştır. Uygulanacak asprosin serum fizyolojik ile dilüe edilmiştir. Asprosin grubuna asprosin (500 ng/kg) (J17AX74JZD ,Elabscience, A.B.D.); kontrol grubuna da benzer şekilde asprosin çözücüsü olan serum intraperitoneal (i.p.) olarak postnatal 21. günden başlanarak 8 hafta boyunca her gün 13.00-15.00 saatleri arasında uygulanmıştır. Uygulama öncesi tartım yapılarak hayvanın gramına göre gereken asprosin miktarı hesaplanıp enjekte edilmiştir.

2.1.3. Puberteye Geçiş Takibi

Ovaryan aktivitenin ilk dış belirteci vajinal açılmadır ve pubertenin başlangıcı olarak kabul edilmektedir (64, 194). Tüm gruplarda yer alan hayvanların PN 30. gününden itibaren, her gün vajinal açıklık takibi yapılarak asprosinin puberteye giriş günü ve pubertal ağırlık üzerindeki etkileri tespit edilmiştir.

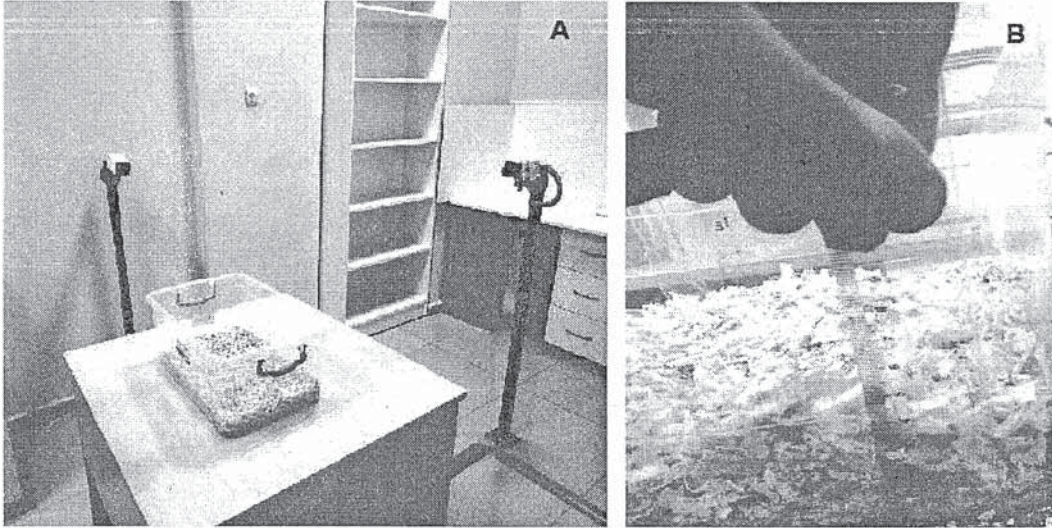
2.1.4. Östrus Siklusunun Takibi

Sıçanların vajinal açıklıklarının belirlendiği günden itibaren başlanarak 15 gün süreyle (ortalama 3 östrus döngüsü olacak şekilde) her gün 10.00-12.00 saatleri arasında vajinal smear yöntemiyle hayvanların östrus siklusu takibi gerçekleştirilmiştir. Böylelikle hayvanların ilk östrus yaşı saptanmıştır. Sıçanlarda östrus döngüsü; ortalama 4-5 gün uzunluğundadır ve metöstrus (diöstrus I), diöstrus (diöstrus II), proöstrus ve östrus olmak üzere toplamda 4 fazdan meydana gelmektedir. Her bir fazın karakterizasyonu ise vajinal smearde görülen hücrelerin tipi (lökosit, çekirdekli epitel hücre ve kornifiye epitel hücre) ve miktarına göre yapılmaktadır (195, 196).

2.1.5. Saklı Kurabiye Testi

Saklı kurabiye testi, ödüle dayalı genel bir koku alma keskinliği performans testidir. Ad libitum beslenen sıçanlar testten iki gün önce günde bir çikolatalı kurabiye tüketmek üzere kendi kafeslerinde eğitilmiştir (Chocapic, Nestlé, Fransa). Bir kurabiyenin ağırlığı $0,3 \text{ g} \pm 0,006$ olup bu da 1,14 kcal/adet karşılık gelmektedir (%28 karbonhidrat; %7 lipid; %17 protein)(197). Boyutları 19,5x47,5x31 cm 24 adet dikdörtgen şekilli plastik kafes düzeneği kullanılmıştır (Şekil 11). Daha sonra ad libitum beslenme devam ederken tüm dişi sıçanlara 4 gün süreyle günde 10

dakika deneme yapılarak adaptasyon sağlanmıştır. Her denemede kullanılan mısır gevreği kafesin bir başka köşesine (4 gün 4 farklı köşeye olacak şekilde), 3 cm derinliğe gömülmüştür. Her adaptasyon bitiminde kafes %10'luk etanolle temizlenmiş ve her seferinde temiz talaş kullanılmıştır. Dört günlük adaptasyon tamamlandıktan sonra dişi hayvanlarda siklus fazının deneyi etkilemesinin önüne geçilmesi amacıyla esas deney tüm hayvanlara östrus fazında yapılmıştır. 24 saat açlık sonrasında hayvanlar teste tabi tutulmuştur ve test tamamlandıktan sonra her bir hayvandan vajinal smear örneği alınıp östrusta olduğu doğrulanmıştır. Hayvanların saklı kurabiyeyi bulması için 10 dakika süre verilmiştir. Videolar kayıt altına alınıp daha sonra izlenerek bulma süreleri tespit edilmiştir. On dakikalık süre içinde bulamayan hayvanlar için süre 600 saniye kabul edilerek istatistiksel analiz yapılmıştır.



Şekil 11: A) saklı kurabiye testi aparatı, B) talaş yüksekliği ölçümü

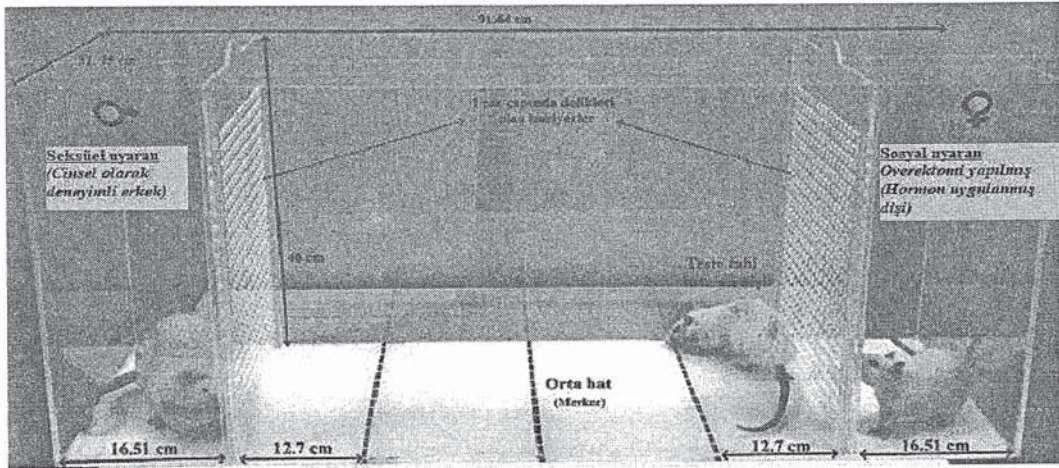
2.1.6. Cinsel Fonksiyonun Değerlendirilmesi

Tez çalışması kapsamında, dişi sıçanların cinsel fonksiyonunu değerlendirmek için Cinsel Davranış Testi (CDT) ve Seksüel İnsentif Motivasyon Testi (SİMT) yapılmıştır. CDT ile hayvanların cinsel motivasyonu ve cinsel performansı belirlenirken, SİMT ile cinsel motivasyon ölçülür.

Sıçanlarda ideal çiftleşme zamanı hayvanların aktif olduğu yani karanlık periyotta oldukları zaman aralığıdır, dolayısıyla tüm cinsel davranış testleri karanlık

periyotta gerçekleştirilmiştir (198). Deneye tabi tutulan dişi sıçanların cinsel motivasyonunu ve aktif araştırmasını değerlendirmek için bir test aparatı kullanılmış olup aparat, Ülker ve arkadaşlarının düzeneğine göre tasarlanmıştır (60) (Şekil 12). Aparat, 3 bölmeli (91.44 cm x 31.75 cm x 40 cm) dikdörtgen, şeffaf ve pleksiglas bir kutudur. Test alanının ana bölmesi, iki küçük bölmeden (16.51 cm uzunluğunda) delikli pleksiglas bariyerlerle (1 cm çapında) ayrılmıştır. Deneysel dişi sıçan ana bölmeye yerleştirilmiştir. Test hayvanı olarak kullanılan cinsel uyarıcı olan erkek sıçan ve sosyal uyarıcı olan overektomi yapılmış ve sonrasında östrus fazına girmiş dişi sıçan ise küçük bölmelerin her birine ayrı ayrı yerleştirilmiştir [48 saat önce 10 µg östradiol (Sigma-Aldrich, ABD)] ve 4 saat önce de 500 µg progesteron (Sigma-Aldrich, ABD) susam yağında çözülürerek 0.1 mL hacminde subkutan olarak verilmiştir (199). Böylece hormon uygulamasına bağlı olarak dişi sıçan östrus fazına alınmıştır. Delikli pleksiglas bariyerler, deneysel dişi sıçan ve iki uyarıcının birbirini duymasına, görmesine ve koklamasına izin vermiş ancak fiziksel teması engellemiştir. Ek olarak, deneysel dişi sıçanların aktivitesini belirlemek için ana bölmenin ortasına kesikli siyah çizgi çizilmiştir.

Davranış testlerinden önce, deneye tabi tutulacak olan dişi sıçanlar, 2 gün boyunca (30 dakika/gün) test cihazına alıştırmıştır. Test gününde, testten hemen önce 5 dakika boyunca ek bir adaptasyon sağlanmıştır. Alışma seansları sırasında, cihaza cinsel ve sosyal uyarıcılar yerleştirilmemiştir. Test cihazı, her testten sonra kalan dışkı, idrar ve kokuları gidermek için %70 etanol ile temizlenmiştir.



Şekil 12: Seksüel insentif motivasyon testi aparatı (41)

Deneye tabi tutulan dişi sıçanın östrus fazındaki 5 dakikalık adaptasyon seansı tamamlandıktan sonra sıçan ev kafesine geri döndürülmüştür. Daha sonra cinsel ve sosyal uyarılar önce küçük bölmelere ayrı ayrı yerleştirildi daha sonra deney dişi sıçanı aparatın ana bölmesinin ortasına yerleştirilmiştir. On dakika boyunca test aparatında serbestçe hareket eden deneye tabi tutulan dişi sıçanların cinsel uyarı veya sosyal uyarılarının yakınında geçirdiği zaman izlenip skorlanmak üzere videoya kaydedilmiştir. Deneye tabi tutulan dişi sıçanın ayaklarının dördü de uyarıları ayıran engellere (kesikli kırmızı çizgilerle belirlenen) bitişik 12.7 cm'lik alan içindeyken, bu sıçanın cinsel veya sosyal uyarının yanında zaman geçirdiği kabul edildi. Buna göre;

- Erkek hayvanın yanında harcanan süre (EHS),
- Dişi hayvanın yanında harcanan süre (DHS),
- Toplam harcanan süre (THS; EHS + DHS),
- Erkek tercih oranı (EHS/THS) hesaplanmıştır.

Ek olarak, deneye tabi tutulan dişi sıçanın 10 dakika boyunca test cihazının merkezinden toplam geçiş sayısı olarak ifade edilen aktivite indeksi, bir el sayacı ile manuel olarak puanlanmıştır (200).

SİMT'te değerlendirilen parametrelerden bir diğeri ise aktif keşiftir. Deney yapılan tüm dişi sıçanlarda, aktif araştırma davranışları Hawcock ve arkadaşlarının yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (201). Aktif araştırma, deneysel dişi sıçanın koklama, yalama, çiğneme ve deneysel dişi sıçanı uyarıcı hayvanlardan ayıran engelleri aşma davranışlarının cinsel ya da sosyal uyarıcıya ulaşmasını içeren bir olaydır (201). Bu deneyde;

- Erkeği araştırmak için harcanan süre (EAS),
- Dişiyi araştırmak için harcanan süre (DAS),
- Toplam araştırma süresi (TAS; EAS +DAS),
- Erkek araştırma tercih oranı (EAS/TAS) ölçülmüştür.

On dakikalık deney video kaydına alınmıştır. Cinsel motivasyonu ve aktif araştırma ile ilgili her bir video kaydı kronometre kullanılarak analiz edilmiştir.

Kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansı üzerindeki etkilerini belirlemek için sıçanlarda CDT yapılmıştır. SİMT tamamlanan tüm sıçanlar cinsel davranış testine tabi tutulmuştur. Asprosin/serum fizyolojik

uygulamasından 1 saat sonra östrus fazında olan dişi sıçan ile test hayvanı olarak kullanılan cinsel yönden aktif olan erkek hayvan çiftleşme düzeneğine birlikte yerleştirilmiş ve dişi hayvan 10 mount alana kadar veya maksimum 10 dakika boyunca testler kayıt altına alındı ve sonrasında analiz edilmiştir (202). Bu testte dişi sıçanların lordozis oranı (L/Mx100) ve 4-nokta skalasına göre lordozis derecesi, erkek hayvanı anogenital araştırma davranışı belirlenmiştir (203, 204). Tüm sıçanların CDT'si deney süresinin 8.haftasında tamamlanmıştır.

Test hayvanı olarak belirtilen bu dişi ve erkek sıçanlar sadece SİMT ve CDT'lerde kullanılmış olup bu hayvanlara ait herhangi bir veri alınmamıştır.

2.1.7. Deneyin Sonlandırılması

Deney cinsel davranış testinin tamamlandığı günde yani dişi sıçanlar östrus fazındayken sonlandırılmıştır. Dekapitasyon işlemi deneyin son gününde hayvanlar anestezide alınmadan gerçekleştirilmiştir. Dekapitasyonu takiben hayvanlardan alınan kan numuneleri 4500 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiş (Hettich, Almanya) ve elde edilen serum örnekleri analiz yapıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Ayrıca histolojik analizler için ovaryum dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonuna (Tekkim, Türkiye) konularak muhafaza edilmiştir.

2.1.8. Hormon Analizleri

Tez çalışmasının bu aşamasında, kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanların üreme hormonları üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda alınan serum numunelerinden ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemiyle FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron, inhibin-A ve inhibin-B, AMH, oksitosin, kisspeptin ve asprosin seviyeleri ölçülmüştür. Ölçülen hormonlara ait kitler ve kitlerin hassasiyeti ile ölçüm aralıkları aşağıda verilmiştir:

Rat spesifik FSH ELISA kitinin (E-EL-R0391; Elabscience, ABD) hassasiyeti 1.88 ng/mL olup ölçüm aralığı 3.13-200 ng/mL'dir. Deney sonunda standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo Scientific, ABD) 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Rat spesifik LH ELISA kitinin (E-EL-R0026; ; Elabscience, ABD) hassasiyeti 0.94 mIU/mL olup ölçüm aralığı 1.56-100 mIU/mL'dir. LH plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik östradiol ELISA kitinin (E-OSEL-R0001; Elabscience, ABD) hassasiyeti 1.17 pg/mL olup ölçüm aralığı 3.13-200 pg/mL'dir. Östradiol plate'i için elde edilen optik dansiteler 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik progesteron ELISA kitinin (E-EL-0154; Elabscience, ABD) hassasiyeti 0.15 ng/mL olup ölçüm aralığı 0.31-20 ng/mL'dir. Progesteron plate'i için elde edilen optik dansiteler 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik testosteron ELISA kitinin (E-OSEL-R0003; Elabscience, ABD) hassasiyeti 0.07 ng/mL olup ölçüm aralığı 0.16-10 ng/mL'dir. Testosteron plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik inhibin-A ELISA kitinin (E-EL-R0521; Elabscience, ABD) hassasiyeti 9.38 pg/mL olup ölçüm aralığı 15.63-1000 bak pg/mL'dir. İnhibin-A plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik inhibin-B ELISA kitinin (E-EL-R1027; Elabscience, ABD) hassasiyeti 9.38 pg/mL olup ölçüm aralığı 15.63-1000 pg/mL'dir. İnhibin-B plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik AMH ELISA kitinin (E-EL-R3022; Elabscience, ABD) hassasiyeti 37.50 pg/mL olup ölçüm aralığı 62.5-4000 pg/mL'dir. AMH plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Oksitosin ELISA kitinin (E-EL-0029; Elabscience, ABD) hassasiyeti 9.38 pg/mL olup ölçüm aralığı 15.63-1000 pg/mL'dir. Oksitosin plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik kisspeptin-1 ELISA kitinin (E-EL-R2530; Elabscience, ABD) hassasiyeti 46.88 pg/mL, olup ölçüm aralığı 78.13-5000 pg/mL'dir. Kisspeptin-1 plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

Rat spesifik asprosin ELISA kitinin (E201-11-5748; SunRed, China) hassasiyeti 0.127 ng/mL olup ölçüm aralığı 1.5-400 ng/mL'dir. Asprosin plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

2.1.9. Histolojik Değerlendirmeler

Kronik asprosin uygulamasının üreme organları üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda ovaryum dokuları sırasıyla % 10'luk formaldehit solüsyonlarında fiksasyon işlemine tabi tutulmuştur. Dokular fiksatifler ile tespit edildikten sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek dehidrate edilmiştir (Tablo 1). En son aşamada dokular parafin bloklara (Sigma-Aldrich Paraplast Embedding Media, ABD) gömülmüş ve bu parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler elde edilmiştir. Over kesitleri Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson'un üçlü boyamaları ile boyanmıştır. Ardından tüm doku kesitleri Leica DM500 görüntüleme sistemi kullanılarak değerlendirilmiş ve fotoğraflanmıştır. Her bir kesitte rastgele seçilen 20 alan incelenmiş ve 20X'lik büyütme altında skorlanmıştır.

Tablo 1. Histolojik takip işlem basamakları.

Sıra	İşlem	Süre (saat)
1	% 70 Alkol	2
2	% 80 Alkol	1
3	% 96 Alkol	1
4	% 96 Alkol	1
5	% 100 Alkol	1
6	% 100 Alkol	1
7	Ksilol I	1
8	Ksilol II	1
9	Sert Parafin	Gece boyu
10	Gömme	

Histopatolojik değerlendirmelerde; ovaryum dokularında ovaryan folikül rezervi değerlendirilmiştir. Foliküller histolojik olarak primordiyal, primer, sekonder ve Graaf folikül olarak sınıflandırılmıştır. Foliküllerin klasifikasyonu aşağıda belirtilen şekilde yapılmıştır:

- **Primordial folikül;** oosit kısmen veya tamamen yassı granüloza hücreleriyle çevrilidir.
- **Primer folikül;** genişlemiş oosit yassı granüloza hücreleri arasında bir tane küboidal hücre veya bir sıra kübik hücre ile çevrilidir.
- **Sekonder folikül;** oosit iki sıra granüloza hücre tabakası veya en az bir tabaka granüloza hücresi ve ikinci tabakada en az bir granüloza hücresi içerir.
- **Graaf folikülü;** oosit ikiden fazla granüloza hücre tabakası ile çevrilidir ve antrum oluşmuştur (205).

2.1.10. İstatistiksel Analiz

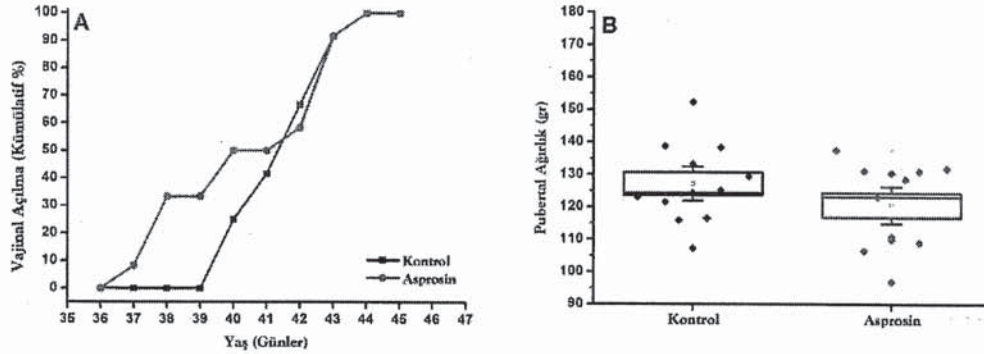
Tez çalışmasının deneysel aşaması sonucunda elde edilen veriler, istatistiksel açıdan SPSS 22.0 programı kullanılarak değerlendirilmiş ve ortalama \pm standart hata (ort \pm SH) olarak verilmiştir. Verilerin dağılımının normalliğini doğrulamak için Shapiro Wilk testi kullanılmıştır. Kontrol ve asprosin grupları arasındaki karşılaştırmalar, parametrik veriler için Student's *t*-testi ile gerçekteştirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen veriler için non-parametrik test olan Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Tüm testlerde *p* değerinin 0.05'den küçük olduğu durumlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Kronik Asprosin Uygulamasının Puberte Zamanlaması Üzerindeki Etkileri

Dişi sıçanlarda ergenliğin dış belirteçi olan vajinal açıklık postnatal 30. günden itibaren ergenlik başlangıcını belirtmek için kullanıldı (6). Kontrol grubunda ilk vajinal açılma postnatal (PN) 40. günde meydana gelirken asprosin grubunda ilk vajinal açılma PN 37. günde görülmüştür (sırasıyla; PN 41.5 ± 0.39 gün ve PN 40.75 ± 0.72 gün, $p = 0.244$, Şekil 13A). Her iki grubun da vajinal kanalizasyonu postnatal 44.günde tamamlanmıştır. Puberteye giriş zamanına paralel olarak pubertal ağırlık asprosin grubunda daha düşük olmasına rağmen arada anlamlı fark yoktur (kontrol 120.55 ± 3.78 gr; asprosin 127.116 ± 3.51 gr, $p = 0.217$, Şekil 13B).

S



Şekil 13. Kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri. Kontrol ve asprosin gruplarında;

A) İlk vajinal açıklığı gösteren dişi sıçanların kümülatif yüzdesi

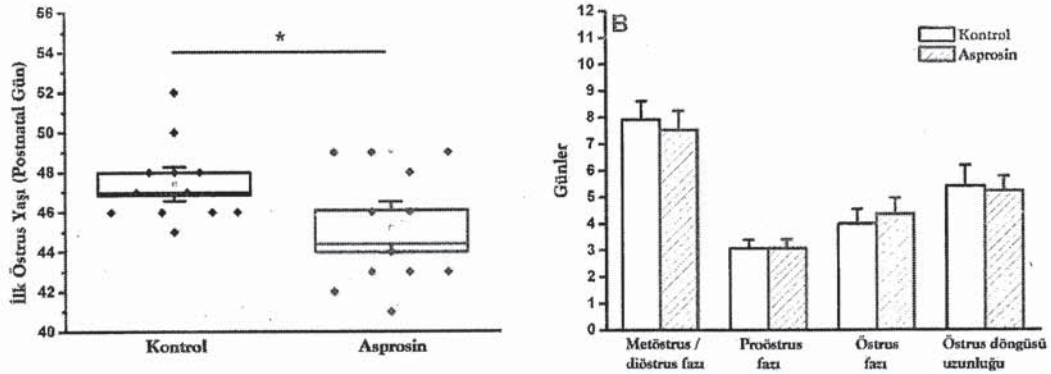
B) Pubertal ağırlıkların dağılımı. Veriler ort \pm SH olarak gösterilmiştir.

(Student's *t*-testi, n=12).

3.2. Kronik Asprosin Uygulamasının Östrus Siklusu Üzerindeki Etkileri

Vajinal açılış gününden başlayarak her hayvan için 15 gün boyunca (ortalama 3 östrus döngüsü) günlük vajinal yayma ile östrus döngüsü incelendi ve ilk östrus yaşı belirlendi (195). Asprosin grubunda ilk östrus siklusu önemli ölçüde

erken meydana gelmiştir (doğum sonrası gün 45.25 ± 2.958 ve dişi kontrol grubu için 47.416 ± 1.9752 , $p = 0.046$). İlk östrus gününün dağılımı Şekil 14'te gösterilmiştir. Asprosin uygulaması yapılan tüm sıçanlar, 4-5 günlük düzenli östrus döngüleri sergiledi. Asprosin grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında metaöstrus/diöstrus, proöstrus ve östrus fazlarının ortalama süresinde anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Bu nedenle, bir östrus döngüsünün ortalama süresi, asprosin uygulamasından etkilenmemiştir (Şekil 14B).



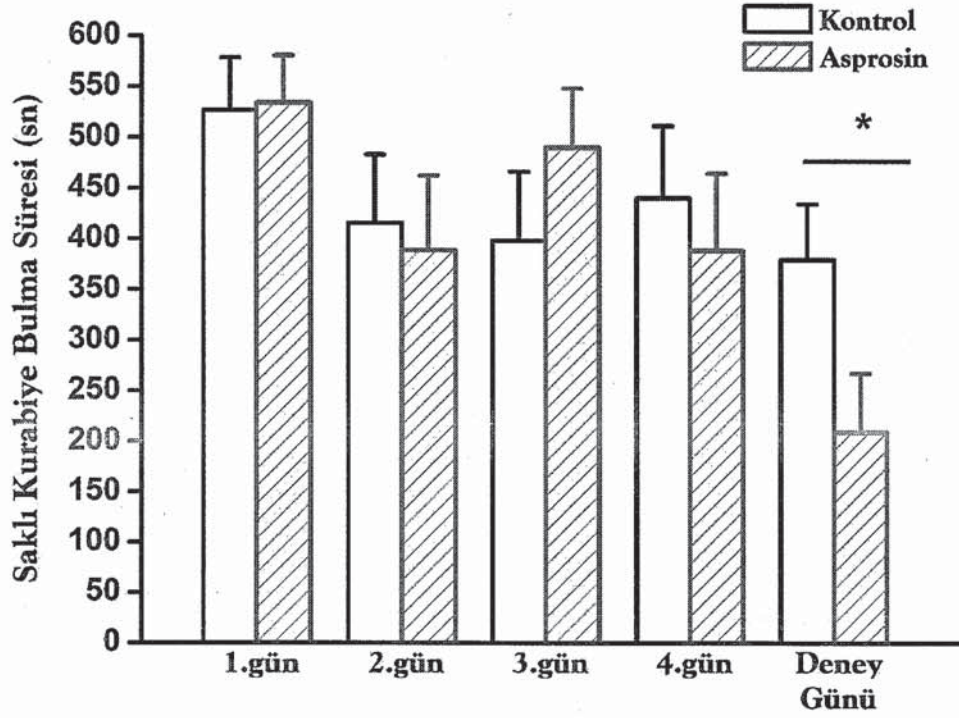
Şekil 14: Dişi sıçanlarda kronik asprosin maruziyetinin ilk östrus yaşı ve östrus döngüsüne etkileri.

A) İlk östrus yaşları

B) Östrus döngüsünün her aşamasında harcanan gün sayısı ve östrus döngüsünün uzunluğu. Veriler grup başına ort \pm SH olarak verilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test, $n=12$).

3.3. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Saklı Kurabiye Testi Üzerindeki Etkileri

Dört gün boyunca hayvanlar aç bırakılmaksızın yapılan deneme çekimlerinin analizi sonucunda kontrol ve asprosin grubunun kurabiyeyi bulma süresinde dişi sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Yirmi dört saat açlık sonrası yapılan esas deneyde ise asprosin grubunun kurabiyeyi bulma süresinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde azaldığı tespit edildi (sırasıyla 379.5833 ± 55.04 sn ve 208.8333 ± 58.28 sn, $p = 0.045$, Şekil 15).

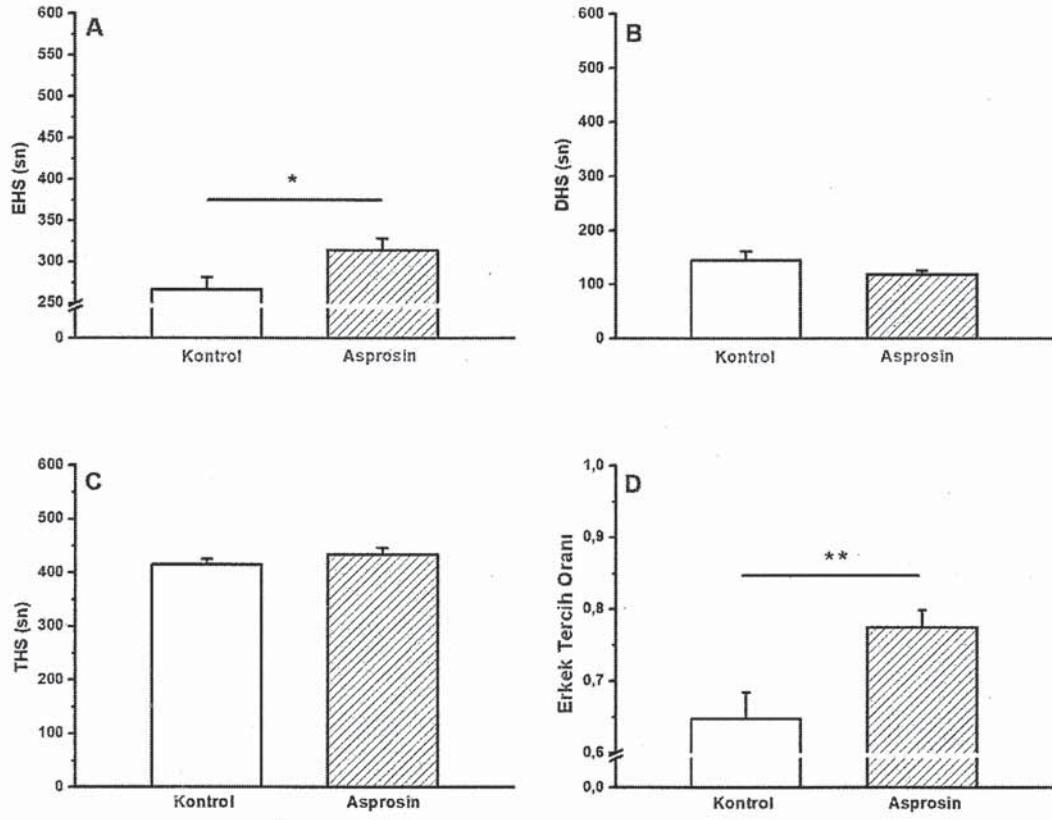


Şekil 15: Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının saklı kurabiye bulma süresi üzerine etkisi. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, $n=12$).

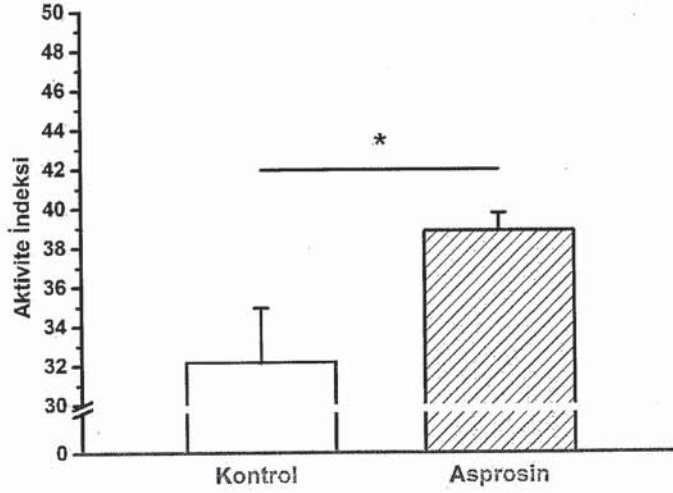
3.4. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Seksüel İnsentif Motivasyon Testi Üzerindeki Etkileri

SİMT'te, kronik asprosin uygulanan dişi sıçanlarda, kontrol grubuna kıyasla cinsel uyarana (erkek hayvana) tercih arttı. Kontrol ile kıyaslandığında, asprosin grubundaki dişi sıçanlarda, erkek hayvanın yanında harcanan süre (EHS) önemli ölçüde arttı (Şekil 16A, $p = 0.03$). Sosyal uyarıcı olan dişi hayvanın yanında harcanan sürede (DHS) iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (Şekil 16B, $p = 0.185$). Öte yandan, kontrol ve asprosin grupları arasında toplam harcanan sürede (THS) yani her iki uyarıcı hayvanın yanında geçirilen zamanda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 16C, $p = 0.259$). EHS'deki değişikliklere bağlı olarak, kronik asprosin uygulamasının, erkek tercih oranını (EHS/THS) önemli ölçüde arttırdığı bulundu (Şekil 16D, $p = 0.009$). Asprosin grubunda aktivite indeksi

olarak tanımlanan merkez noktadan geçiş sayısının kontrol grubuna göre artmış olduğu tespit edildi (Şekil 17, $p = 0.040$).



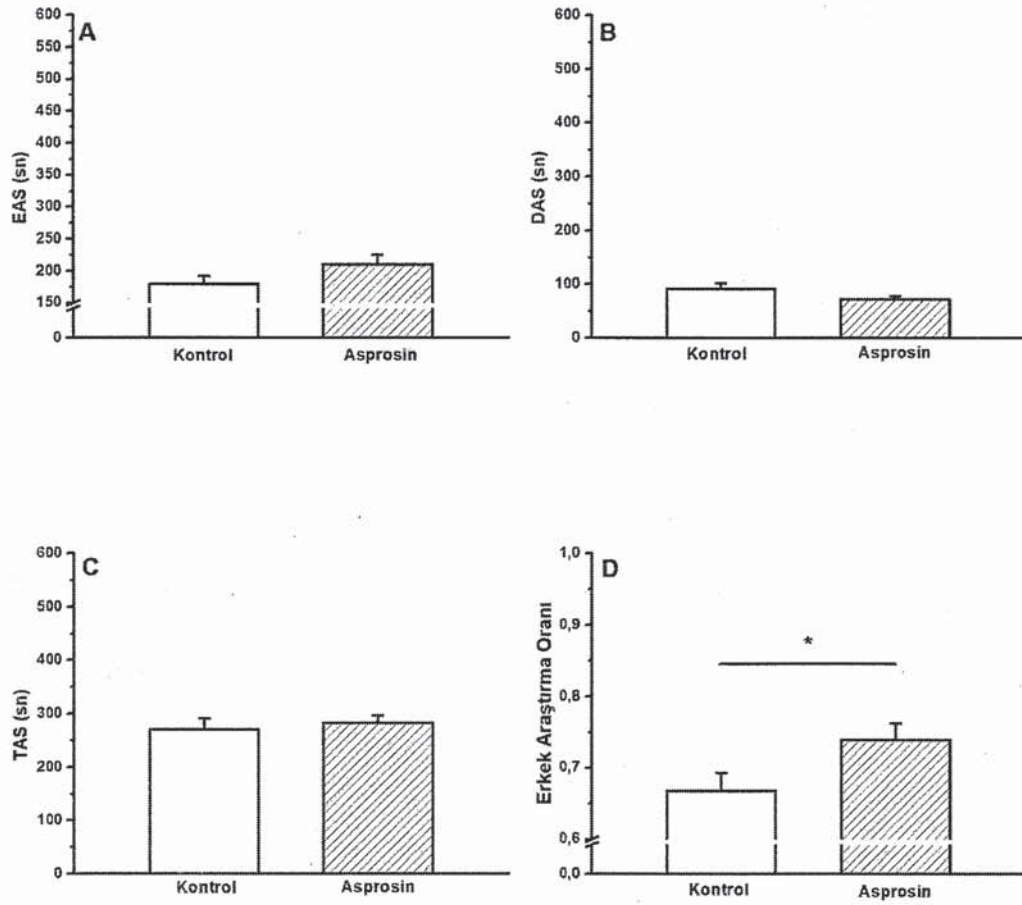
Şekil 16: Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının seksüel insentif motivasyon üzerindeki etkileri. (A) EHS: Erkek sıçanın yanında harcanan süre, (B) DHS: Dişi sıçanın yanında harcanan süre, (C) THS: Toplam harcanan süre, (D) Erkek tercih oranı (EHS/THS). Veriler ort \pm SH olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test).



Şekil 17: Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının aktivite indeksi (merkez noktadan geçiş sayısı) üzerindeki etkisi. Veriler $\text{ort} \pm \text{SH}$ olarak gösterilmiştir. * $p < 0.05$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test).

3.5. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Aktif Araştırma Üzerindeki Etkileri

Kronik asprosin uygulanan grup ile kontrol grubu arasında cinsel uyarıcı olan erkek hayvanı araştırmak için harcanan sürede (EAS) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 18A, $p = 0.131$). Bununla birlikte, sosyal uyarıcı olan dişi hayvanı aktif olarak araştırmak için harcanan sürede de (DAS) anlamlı bir farklılık saptanmadı (Şekil 18B, $p = 0.164$). Cinsel ve sosyal uyarıcılara yönelik toplam araştırma süresi (TAS) arasında iki grup arasında anlamlı bir fark yoktu (Şekil 18C, $p = 0.630$). Ancak kronik asprosin uygulanan grupta erkek araştırma oranının (EAS/TAS) kontrol grubundaki dişi sıçanlara göre önemli ölçüde arttığı bulundu (Şekil 18D, $p = 0.045$).

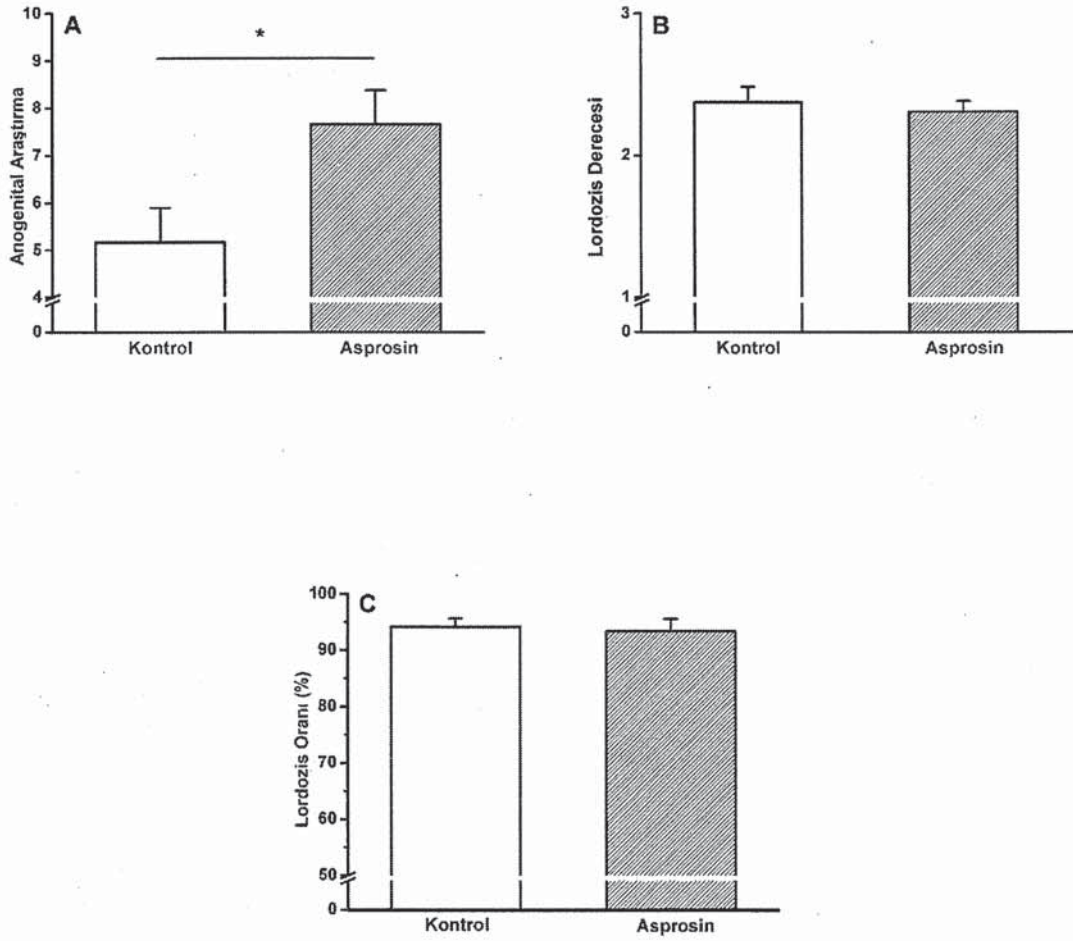


Şekil 18: Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının aktif araştırma üzerindeki etkileri. (A) EAS: Erkek sıçanı araştırma süresi. (B) DAS: Dişi sıçanı araştırma süresi (C). TAS: Toplam araştırma süresi. (D) Erkek araştırma oranı (EAS/TAS). Veriler $\text{ort} \pm \text{SH}$ olarak ifade edilir. * $p < 0.05$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's *t*-test).

3.6. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Cinsel Davranış Testi Üzerindeki Etkileri

Dişi sıçanlarda cinsel performansı değerlendirmek amacıyla sıklıkla lordozis derecesi ve lordozis oranı kullanılmaktadır, bu orandaki artışın dişini uyarılmasındaki artışla korele olduğu düşünülür (201, 203, 204). Lordozis dişi sıçanların cinsel davranışının son aşamasıdır (88, 90). Dişi sıçanlarda gerçekleştirilen cinsel davranış testlerinin sonucunda, kronik asprosin uygulanmış dişi sıçanlarda kontrol grubuna göre anogenital araştırma davranışı istatistiksel

olarak anlamlı şekilde arttı (Şekil 19A, $p = 0.022$) ancak lordozis derecesi (Şekil 19B, $p = 0.622$) ve lordozis oranının (Şekil 19C, $p = 0.760$) değişmediği belirlendi.

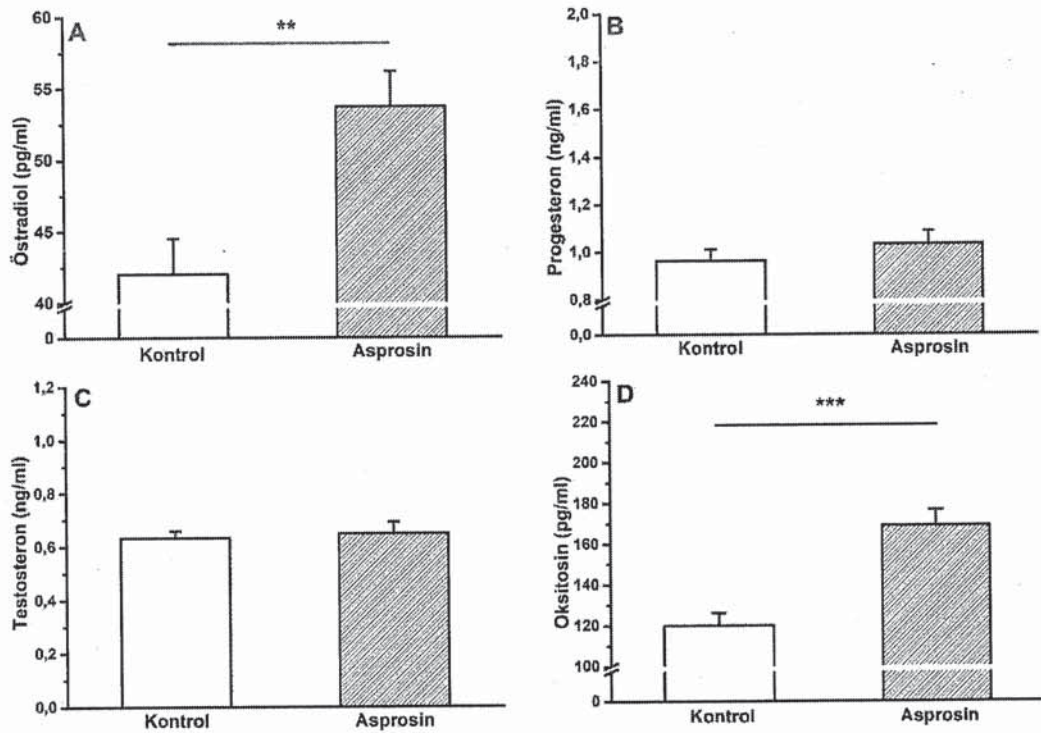


Şekil 19: Kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansı üzerine etkileri. Veriler ort \pm SH olarak ifade edilir. * $p < 0.05$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test).

3.7. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Serum Hormon Seviyeleri Üzerindeki Etkileri

Kronik asprosin uygulamasının dişi üreme fizyolojisinde yer alan spesifik hormonlar üzerindeki etkilerini belirlemek için ELISA yöntemi kullanılarak serum östradiol, progesteron, testosteron, oksitosin, FSH, LH, İnhibin A, İnhibin B, AMH, kisspeptin ve asprosin seviyeleri, deney sonunda östrus siklusunun aynı fazında ölçüldü.

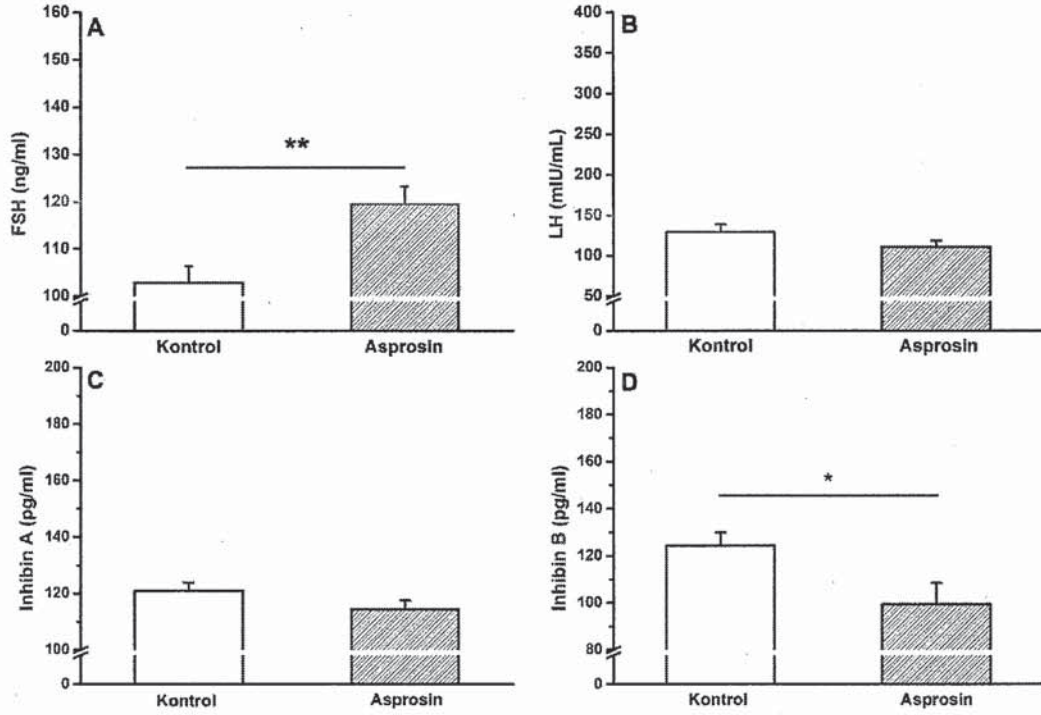
Kontrol grubundaki dişi sıçanlarla karşılaştırıldığında, asprosin uygulanan dişi sıçanlarda serum östradiol düzeyleri önemli ölçüde arttı (sırasıyla 42.02 ± 2.50 pg/mL ve 53.72 ± 2.45 pg/mL, $p < 0.01$). Buna karşın, serum progesteron ve testosteron düzeylerinde anlamlı fark bulunamadı (Sırasıyla progesteron; 0.966 ± 0.04 ng/mL ve 1.032 ± 0.05 ng/mL, testosteron; 0.6313 ± 0.028 ng/mL ve 0.6484 ± 0.043 ng/mL). Kronik olarak asprosin uygulanan grupta oksitosin serum seviyeleri önemli ölçüde yüksekti (sırasıyla 119.89 ± 3.35 pg/mL ve 168.83 ± 7.84 pg/mL, $p < 0.001$) (Şekil 20).



Şekil 20: Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulamasının serum üreme hormonu seviyeleri üzerindeki etkileri. (A) Serum östradiol seviyeleri, (B) Serum progesteron seviyeleri, (C) Serum testosteron seviyeleri, (D) Serum oksitosin seviyeleri. Veriler ort \pm SH olarak ifade edilir. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test).

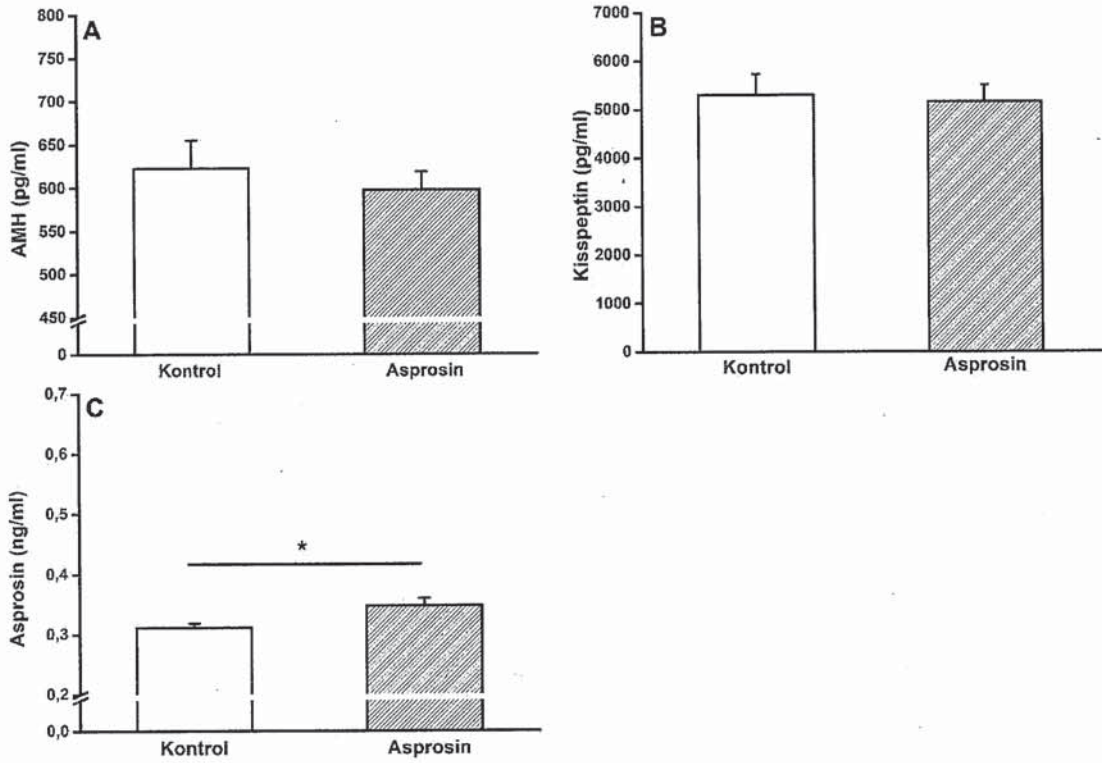
Dişi sıçanlarda, kronik asprosin uygulaması, serum FSH seviyelerini önemli ölçüde artırırken (102.88 ± 11.73 ng/mL'ye karşı 119.36 ± 11.28 ng/mL, $p = 0.004$) serum İnhibin B seviyelerini önemli ölçüde azalttı (124.35 ± 17.15 pg/mL'ye karşı

99.37 ± 21.23 pg/mL, $p = 0.027$). Öte yandan, asprosin ve kontrol grubu arasında serum LH ve İnhibin A seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmadı (LH; 128.75 ± 30.02 mIU/mL'ye karşı 110.89 ± 29.65 mIU/mL, $p = 0.157$ ve İnhibin A; 124.35 ± 9.77 pg/mL'ye karşı 114.38 ± 11.05 pg/mL, $p = 0.113$)(Şekil 21).



Şekil 21: Dişi sıçanlarda kronik i.p. asprosin enjeksiyonunun serum üreme hormonu seviyeleri üzerindeki etkileri. (A) Serum FSH seviyeleri, (B) Serum LH seviyeleri, (C) Serum İnhibin A seviyeleri, (D) Serum İnhibin B seviyeleri. Veriler ort ± SH olarak ifade edilir. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test).

Dişi sıçanlarda kronik asprosin uygulaması ile serum AMH ve kisspeptin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (AMH için 622.6 ± 62.55 pg/mL'ye karşı 597.51 ± 51.68 pg/mL, $p = 0.509$ ve kisspeptin için 5297.36 ± 431.05 pg/mL'ye karşı 5146.818 ± 350.79 pg/mL, $p = 0.504$). Kronik uygulama sonucu serum asprosin seviyeleri önemli ölçüde arttırmıştır (sırasıyla 0.31124 ± 0.00074 ng/mL'ye karşı 0.34737 ± 0.01212 ng/mL, $p = 0,019$)(Şekil 22).

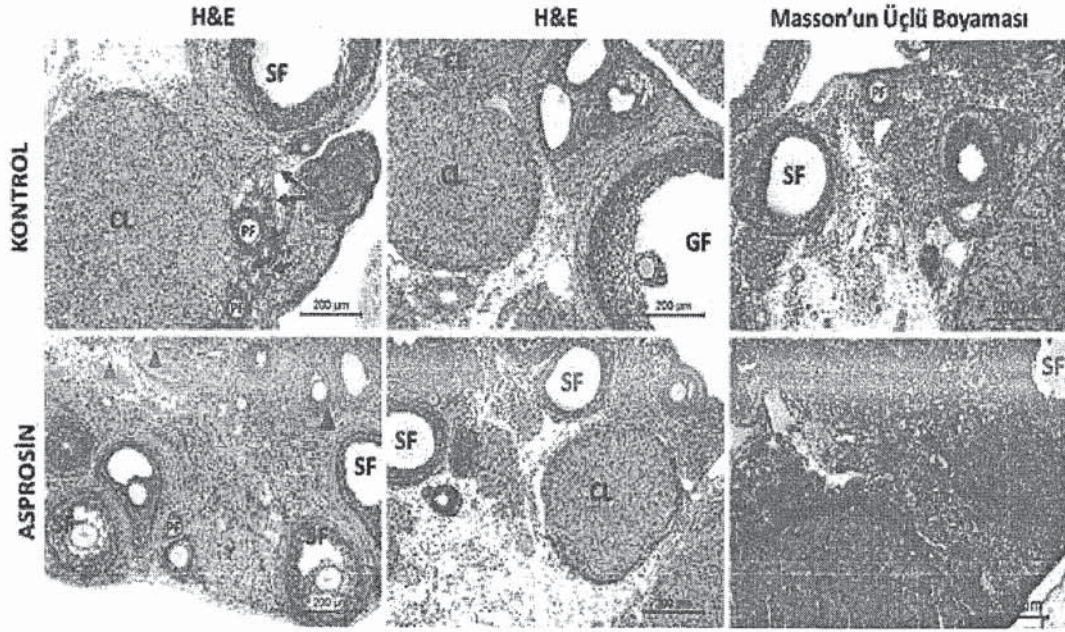


Şekil 22: Dişi sıçanlarda kronik i.p. asprosin uygulamasının serum hormon seviyeleri üzerindeki etkileri. (A) Serum AMH seviyeleri, (B) Serum kisspeptin seviyeleri, (C) Serum asprosin seviyeleri. Veriler ort ± SH olarak ifade edilir. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ ve *** $p \leq 0.001$, kontrol ve asprosin grupları arasındaki anlamlı farkı gösterir (Student's t -test).

3.8. Dişi Sıçanlarda Kronik Asprosin Uygulamasının Over Histolojisi Üzerindeki Etkileri

Son olarak, kronik asprosin maruziyetinin over morfolojisi üzerindeki genel etkilerini araştırmak için histolojik analiz gerçekleştirildi (206). Kontrol ve asprosin gruplarından alınan over kesitlerinde, primordial, primer, sekonder, tersiyer foliküllerden ve korpus luteum gösterildi (Şekil 23). Asprosin grubunda kontrol grubundan farklı olarak over medullasında yer alan damarlarda yer yer konjesyon izlendi. Bunun dışında herhangi bir histopatolojik değişikliğe rastlanılmadı. Asprosin grubundaki sıçanların ovaryum kesitlerinin ışık mikroskopik değerlendirilmesinde primer ve sekonder folikül sayıları kontrol grubundakine göre fazlaydı ($p = 0.008$ ve $p = 0.047$). Primordial folikül, tersiyer folikül ve korpus

luteum sayıları açısından kontrol ve asprosin grupları arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (Tablo 2).



Şekil 23: Kontrol ve asprosin gruplarına ait over dokularının histolojik görünümü. CL: Korpus luteum; SF: Sekonder folikül; GF: Graaf folikülü; PF: Primer folikül; PrF: Primordiyal folikül; GE: Germinal Epitel; Siyah üçgen: Over medullasındaki damarlarda konjesyon.

Tablo 2. Over dokusuna ait farklı gelişim aşamalarındaki folikül sayıları

Gruplar	Primordial folikül Median (min-max)	Primer folikül Median (min-max)	Sekonder folikül Median (min-max)	Tersiyer folikül Median (min-max)	Korpus Luteum Median (min-max)
Kontrol	4 (1-9)	3 (0-5)	8 (6-25)	1 (0-1)	10 (1-14)
Asprosin	10 (2-18)	7 (4-16)	29 (4-37)	1 (0-2)	14 (7-18)
<i>p</i> değeri	0.080	0.008	0.047	0.578	0.108

Değerler Median (min-max) olarak sunulmuştur. Over dokusuna ait folikül sayılarının istatistiksel analizinde nonparametrik Mann-Whitney U testi uygulanmıştır.

4. TARTIŞMA

Adipokinlerin metabolizma üzerindeki çeşitli görevleriyle ilişkili çok sayıda araştırma yapılmış olmasına karşın üreme sistemine etkilerini inceleyen çalışmalar sınırlıdır. Adipoz dokudaki artışın veya azalmanın farklı türlerde puberteyi, cinsel olgunlaşmayı ve doğurganlığı etkilediği bilinmektedir (207). Asprosin yeni tanımlanmış bir adipokin olup esas olarak açlık sırasında beyaz yağ doku tarafından sentezlenerek dolaşıma salınmaktadır (173). Fakat çeşitli metabolik süreçlerde önemli rolleri olan ve olfaktör reseptör aracılı etki göstermesi nedeniyle koku duyusuyla da ilişkilendirilebilen asprosinin üreme sistemi üzerindeki nöroendokrin etkileri net bilinmemektedir. Tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarla, ekzojen asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma ve üreme fonksiyonu üzerinde farklı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca dişi sıçanlarda cinsel davranış ve üreme fizyolojisi üzerine olumlu etkilerinin olduğu ortaya koyulmuştur. Bu başlık altında, elde edilen bulgulara dair tartışmalar yer almaktadır.

4.1. Kronik Asprosin Uygulamasının Puberte Üzerine Etkileri

Tez çalışması kapsamında kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda puberte üzerine etkileri incelenmiştir. Asprosin uygulaması sonucu puberteye girişin değerlendirilmesinde kullanılan ilk basamak olan vajinal açılma yaşında anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir. Yine buna paralel şekilde pubertal ağırlıkta da anlamlı fark görülmemiştir. Ayrıca puberte başlangıcını tetiklediği bilinen kisspeptin ve LH'nin serum düzeyleri asprosin uygulaması sonucunda değişmemiştir ve bu veriler puberteye giriş yaşının değişmemesiyle uyum göstermektedir. Ancak pubertenin değerlendirilmesinde kullanılan bir diğer önemli parametre olan ilk östrus dönemi asprosin grubunda daha erken meydana gelmiştir.

Literatürde çeşitli adipokinlerin puberte ve üreme fizyolojisi üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan araştırmalar, vücut yağ oranının ve adipoz dokunun puberte süreci üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermektedir. Bu etkileşimin, adipoz dokunun sadece enerji rezervi olarak değil aynı zamanda aktif bir endokrin organ olarak işlev görmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (4, 115). Adipoz dokunun artışı, adipokin salınımını etkileyerek direkt olarak hem adrenarşi hem de gonadarşi

modüle edebilmektedir ve bu da pubertenin başlamasında önemli bir rol oynamaktadır (208). Bu nedenle adipokinlerin puberteyle ilişkisinin ortaya çıkarılması önem arz etmektedir. İlk keşfedilen adipokin olan ve tıpkı asprosin gibi yağ doku artışıyla salınımı artan leptinin puberte üzerindeki etkisi incelendiğinde, kisspeptin ve GnRH salınımını uyararak pubertenin başlangıcını hızlandırdığı gösterilmiştir (209). Leptin reseptörleri hipotalamus ve hipofiz bezinde bulunduğundan HHG eksenini etkileyerek pubertenin başlamasında rol oynayabilirler. Yağ doku miktarının artışıyla serum düzeyi azalan adiponektin ise GnRH, LH ve FSH'nin salgılanmasını inhibe ederek pubertenin başlangıcını geciktirmektedir (210, 211). Bu veriler leptin ve adiponektinin aksine; asprosinin üreme sistemi üzerindeki potansiyel etkisini pubertal yaşı etkilemeden ortaya çıkardığını düşündürmektedir.

Davranış testlerinin ardından gerçekleştirilen dekapitasyon sonrası elde edilen serum örneklerinden dişi üreme fizyolojisinde önemli rol oynayan hormonların analizi yapılmıştır. Bilindiği üzere kisspeptin hormonu üreme aksının uyarıcısıdır ve pubertal gelişimde önemli bir rol oynamaktadır. Kisspeptin, GnRH atım jeneratörünü düzenler ve GPR54 aracılığıyla GnRH sekresyonunu uyararak gonadotropin salınımını sağlayarak etki eder (43). Yapılan çalışmalarda, kisspeptin/GPR54 sisteminin puberte başlangıcını tetiklediği gösterilmiştir (44). Mevcut çalışmamızda iki grup arasında puberteye giriş yaşı arasında ve aynı doğrultuda serum kisspeptin düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Ayrıca yapılan hayvan çalışmaları, GnRH sekresyonu ile periferik LH konsantrasyonları arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermektedir (212, 213). Hayvan modellerinden elde edilen bulgulara dayanarak, LH pulsasyon frekansının GnRH sekresyonunu yansıttığı varsayımı ortaya koyulmuştur (214). Çalışmamızda periferik LH düzeyinde iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir ve bu da kisspeptin düzeyininin değişmemesi ve puberte başlangıç yaşında farklılık olmamasını açıklayabilir. Elde ettiğimiz veriler bu yönüyle literatürle uyum göstermektedir.

Östrus dönemi, hayvanlarda üreme kabiliyetinin kazanıldığı önemli bir dönemdir, bu dönemde hayvanlar cinsel olarak aktif olup üremek için cinsel davranışlar sergilerler (215). Bu sebeple östrus dönemi, pubertal gelişim sürecinde

hayati bir basamağı teşkil eder çünkü bu dönem, bireylerin üreme yeteneğine kavuşmasının bir göstergesidir. Deneysel hayvanlarında östrus döngüsünün değerlendirilmesi, HHG ekseninin bütünlüğünün ve dişi üreme sisteminin işleyen fertilitite durumunun yararlı bir ölçüsüdür (216). Bu sebeple östrus döngüsü normal işleyen bir üreme aksının ve fertilitenin bir göstergesi olarak düşünülebilir. Puberte başlangıcında anlamlı fark olmamasına rağmen üreme fizyolojisinde anahtar bir rolü olan ilk östrus döngüsü asprosin uygulanan grupta daha erken görülmüştür. Buradan yola çıkarak asprosinin pubertal olgunlaşma ve devamındaki süreç olan üreme yeteneğinin kazanılmasında görev alan bir adipokin olduğu görülmektedir. Asprosinin bu süreçteki potansiyel etkileri, gelecekteki araştırmaların odak noktalarından biri olabilir. Dolayısıyla, asprosin ve diğer adipokinlerin üreme biyolojisi üzerindeki rolünü anlamak, üreme sağlığını iyileştirmeye yönelik yeni terapötik yaklaşımların kapısını aralayabilir.

Kronik asprosin uygulamasının puberte üzerine etkilerini inceleyen bu çalışma, son yıllarda kadınların üreme kapasitesinde gözlenen düşüş ve mevcut tedavi seçeneklerinin sınırlılığı ile daha da anlam kazanmaktadır. Fertilitite fizyolojisinin net anlaşılması; kadınlarda artan infertilite oranlarına tedavi geliştirme çalışmaları için acil bir ihtiyaç ortaya koymaktadır (217). Asprosin uygulamasının, dişi fertilitesinde hayati bir öneme sahip östrus fazının daha erken görülmesine yol açması, bu molekülün terapötik bir ajan olarak kullanım potansiyelini ortaya koymaktadır. Bu bulgu, asprosinin reproduktif fonksiyonları modüle etme kabiliyetine dair önemli bir gösterge olarak değerlendirilebilir ve gelecekteki fertilitite tedavilerinde yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesi için bir temel sunmaktadır. Bu bağlamda, adipoz dokunun ve özellikle asprosin gibi adipokinlerin puberte üzerine etkilerini anlamaya yönelik araştırmalar, üreme sağlığıyla ilgili sorunlara karşı mücadelede önemli bir adım oluşturmaktadır.

4.2. Kronik Asprosin Uygulamasının Koku Alma Performansı Üzerine Etkileri

Kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlardaki koku alma performansı üzerine etkisi saklı kurabiye testi yapılarak incelenmiştir. Asprosin grubunun saklı kurabiye bulma süresi kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde kısalmıştır. Mevcut

veriler dişi sıçanlarda asprosin hormonunun koku alma performansını arttırdığını gösteren ilk kanıtı sunmaktadır. Bunun yanı sıra yaptığımız hormon analizleriyle de koku almada ve cinsel istekte anahtar rol oynayan östrojen hormonunun asprosin grubunda arttığı görülmektedir.

Olfaktör nöronlar ve GnRH nöronları arasındaki ilişkinin incelenmesi, üreme biyolojisi ve nöroendokrinoloji alanlarında ileri adımlar atılması için önemlidir. Bu iki nöron tipi arasındaki ilişki, feromonlar gibi çevresel uyaranların üreme davranışları ve hormon düzenlemesi üzerindeki etkilerini araştırmada özellikle ilgi çekicidir. Feromonlar, bir bireyin bir diğetine, özellikle de üreme durumu hakkında bilgi veren kimyasal işaretlerdir (218). Bu bilgiler olfaktör nöronlar tarafından algılandığında, GnRH nöronlarına iletilerek gonadotropin salınımını etkileyebilir ve dolayısıyla üreme fonksiyonlarını düzenleyebilir. Embriyonik gelişim sırasında, GnRH nöronlarının hipotalamusa olan göçü, olfaktör (koku) nöronların aksonlarının rehberliğinde gerçekleşir. Bu süreçte herhangi bir defekt, Kallman Sendromu olarak bilinen ve anosmi (koku kaybı) ile seksüel disfonksiyonun bir arada görüldüğü bir duruma yol açabilir (105). Bu bağlamda, olfaktör sistem ile GnRH arasındaki ilişki, koku ve cinsel davranış arasında da potansiyel bir bağlantı olduğunu güçlü bir şekilde öne sürmektedir. Kokular, birçok canlıda cinsel davranışa da aracılık eder ve karşı cinsten türdeşlerin tanınmasının yanında farklı bireylerin potansiyel eşler olarak uygunluğunu değerlendirmede kilit rol oynar (219). Bugüne kadar yapılan pek çok araştırma, cinsiyet tanıma ve cinsel dürtü ve davranışın kontrolünde ana ve yardımcı koku alma sisteminin ayrı rollerini ele almıştır (220-222). Bu bağlamda geniş bir yelpazeden bakılınca asprosinin olfaktör reseptör üzerinden etki etmesi ve adi poz doku artışıyla salınımının artması nedeniyle koku performansına ve seksüel hormon seviyelerine olumlu etki edebileceğini düşündük. Literatür tarandığında dişilerde koku ve asprosin ilişkisi üzerine yapılan bir çalışma bulunamamıştır. Yukarıda bahsedildiği üzere koku ve cinsel davranış ilişkisini ortaya koymak için de asprosinin koku alma performansına etkisinin aydınlatılması önem arz etmektedir. Bu amaçla tez çalışması kapsamında yapılan saklı kurabiye testi uzun süredir kullanılan ve koku performansını başarıyla değerlendiren ödüle dayalı bir koku alma performans testidir (197, 223, 224). Gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde ettiğimiz veriler asprosinin koku

performansını pozitif yönde etkilediği gösterilmiş olup dişilerde cinsel davranışın kontrolünde önem arz eden bir adipokin olduğunu göstermektedir.

Ayrıca dişilerde cinsel davranışla kuvvetli korelasyon gösteren östrojen hormonunun da kokularla ilişkisi araştırmalara konu olmuştur. Östrojen replasmanının özellikle amigdala reseptörü üzerinden koku alma duyusunu arttırdığı da gösterilmiştir (225). Bu çalışmanın sonuçları, kadınlarda cinsel istek düzeyindeki azalmanın, koku sinyallerinin güçlendirilmesi veya östrojen seviyelerinin düzenlenmesi yoluyla potansiyel olarak iyileştirilebileceğini düşündürmektedir. Bu bulgular, cinsel işlev bozukluklarının tedavisine yönelik yeni terapötik stratejilerin geliştirilmesi bağlamında önemli birer referans noktası teşkil etmektedir. Elde edilen sonuçlar asprosinin dişi üreme sistemi üzerindeki olumlu etkisinin sadece hormonal yollardan değil aynı zamanda olfaktör reseptör üzerinden koku alma performansını güçlendirerek etki edebileceğine işaret etmektedir. Bu kapsamda çalışmamızın sonuçları reseptör düzeyinde yapılacak ileri araştırmalar için literatüre ışık tutacak niteliktedir.

4.3. Kronik Asprosin Uygulamasının Cinsel Motivasyon ve Davranış Üzerine Etkileri

Tez çalışması kapsamında kronik asprosin uygulamasının cinsel motivasyon ve davranış üzerine etkisini araştırmak için SİMT ve CDT yapılmıştır. SİMT ile asprosin uygulanan grupta erkeğin yanında harcanan sürenin, erkek tercih oranının, aktivite indeksinin ve erkek araştırma oranının arttığı gösterilmiştir. Akabinde gerçekleştirilen CDT ile asprosin uygulamasının anogenital araştırma hareketini artırdığı gösterilmiştir. Deneyle sonuçunda alınan serum örneklerinde cinsel davranış ve motivasyona etkili olan bazı hormonların düzeyleri incelenmiştir. Yapılan hormonal analizler sonucunda asprosin uygulanan grupta serum östradiol ve oksitosin seviyelerinin anlamlı olarak arttığı; serum kisspeptin, testosteron ve progesteron düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir.

Bilindiği üzere kadınlarda cinsel istekte azalma, biyolojik ve psikososyal bileşenleri olan çok boyutlu bir tıbbi sorundur (226). Bu sorunun altında yatan mekanizmaları anlamak ve çözümüne yönelik alternatifler aramak önem arz etmektedir. Yapılan bir çalışmada asprosinin intrafoliküler enjeksiyonunun

foliküler büyümei uyardığı gösterilmiştir (174). Bunun yanı sıra menstrual siklusun evrelerinde asprosin seviyeleri de araştırılmıştır ve foliküler faza kıyasla luteal fazda asprosin düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir (227). Asprosinin dişi üreme sistemindeki bu etkileri araştırılmasına karşı cinsel motivasyon ve davranış üzerine etkisi incelenmemiştir. Ayrıca asprosinin koku alma performansı üzerine pozitif etkisi olması da cinsel davranışla ilişkilendirilebilecek bir diğer önemli faktördür. Veriler birlikte ele alındığında asprosinin cinsel fonksiyonda önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Tez çalışması kapsamında yapılan bu test, sıçanların cinsel veya sosyal uyarana karşı motivasyonunu ve aktif araştırmayı değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Testte dişinin sosyal bir uyarana olan dişi sıçana göre cinsel açıdan aktif bir erkeğin yanında vakit geçirme tercihi, dişinin cinsel motivasyonunu yansıtır (228). Siklusu düzenli olan sıçanlarda östrus fazında cinsel davranışın maksimumda olduğu bilinmektedir (77). Her iki gruptaki cinsel açıdan alıcı dişi sıçanlar, cinsel uyarana olan erkek hayvanın yanında sosyal uyarana oranla daha fazla zaman harcamıştır. Bu beklenen bir sonuçtur çünkü östrus fazında dişilerin çiftleşmek için motivasyonu yüksektir (229, 230). Bununla beraber asprosin uygulanan dişi sıçanlar erkek hayvanın yanında kontrol grubuna oranla daha fazla zaman geçirmişlerdir ve buna bağlı olarak erkek tercih oranında da anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Verilerimiz asprosinin dişi hayvanın cinsel motivasyonunu arttırdığını göstermektedir. Bariyerin arkasındaki uyarıcı hayvanlara ilgiyi gösteren aktif araştırma testinde erkek hayvanı araştırma oranı asprosin uygulanan grupta anlamlı düzeyde artmıştır. Dolayısıyla erkek tercih oranının artmasına paralel olarak erkek araştırma oranının da artması kronik asprosin uygulamasının cinsel uyarana karşı ilgiyi arttırdığını göstermektedir. Çalışmamız dişi sıçanlarda asprosin uygulamasının cinsel motivasyonu ve ilgiyi arttırdığını ortaya koyan ilk çalışmadır. Bu bağlamda, asprosinin etkilerini ve terapötik potansiyelini kapsamlı bir şekilde analiz etmek zorunluluğu ortaya çıkmaktadır. Özellikle asprosinin hormonal ve nöral yollardaki etkileri, kadınlarda cinsel işlev bozukluklarının tedavisindeki potansiyel rolünün anlaşılması açısından hayati öneme sahiptir. Bu alandaki ayrıntılı çalışmalar, asprosinin kullanım alanlarını ve etkinliğini aydınlatarak yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine önemli katkılar sunabilir.

Aktivite indeksi olarak ifade edilen ve lokomotor aktiviteyle ilişkilendirilen aparatın merkez noktasından geçme sayısının asprosin uygulanan grupta arttığı gösterilmiştir. Aktivite indeksindeki bu değişimin hem cinsel motivasyonda hem de aktif keşif üzerinde kafa karıştırıcı bir faktör olabileceği de düşünülmektedir (200). Daha önce yapılan saklı kurabiye testinde asprosinin koku performansının arttırdığı gösterilmiştir. Bu iki veri birlikte ele alındığında asprosinin sosyal ve cinsel uyarının kokularına karşı deneysel dişi sıçanı daha duyarlı hale getirdiği ve bu sebeple aktivite indeksini arttırdığı da düşünülebilir.

Kadınlarda steroid hormonların (östradiol, testosteron, progesteron) cinsel istek üzerine etkisi olduğu bilinmektedir (231, 232). Östrojenin kadın cinsel isteğini arttırdığı gösterilmiştir (233). Çalışmamızda da kronik asprosinin hem serum östradiol seviyesini arttırdığı hem de cinsel motivasyon üzerine olumlu etkisi olduğu ortaya koyulmuştur ve bulgularımız literatürle uyum göstermektedir. Kadınlarda cinsel isteği azaltırken erkeklerde cinsel isteği artırdığı gösterilen seks steroidi testosterondur (234). Daha önce erkek sıçanlara icv olarak asprosin uygulanması sonucunda testosteronun arttığı gösterilmiştir (235). Dişilerde yapılan çalışmamızda ise asprosin uygulaması testosteron seviyelerini değiştirmemiştir. Dişi sıçanlardaki cinsel davranışların bir diğer seks steroidi olan progesteron salgılanmasına bağlı olabileceği gösterilmiştir (236). Çalışmamızda iki grup arasında testosteronun yanı sıra progesteron seviyeleri arasında da fark yoktur. Kisspeptin hormonu pubertenin akabinde üreme aktivitesinin kontrolünde de rol oynayan bir hormondur (237). Bu çalışmada, kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu artırmasına rağmen serum kisspeptin-1 düzeylerini değiştirmedeği bulunmuştur. Bu sonuç, asprosin kronik uygulamasını takiben artan cinsel motivasyonun dişi sıçanlarda kisspeptin hormonundan bağımsız bir yolla etki etmiş olabileceğini düşündürmektedir. Kisspeptin, progesteron ve testosteron düzeylerinin değişmemesi, asprosinin hedef dokularda östrojen konsantrasyonlarını doğrudan etkileyerek bağımsız bir şekilde artırma potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu önermenin mekanizmasının detaylı bir şekilde aydınlatılabilmesi, immunohistokimyasal yöntemlerin kullanıldığı ileri seviye araştırmalar ile mümkün olacaktır.

Merkezi sinir sisteminde tanımlanan sayısız nöropeptidten sadece birkaçı cinsel davranışın kontrolünde rol oynar. Bunlar arasında en çok çalışılanlardan biri de oksitosindir (68). Oksitosin hakkında en yaygın bilinen etki maternal adaptif rol oynamasının yanında davranışsal ve fizyolojik mekanizmaları senkronize etmesidir (238). Bu özelliklerin yanı sıra çiftleşmenin hayvanlarda ve insanlarda geçici olarak oksitosin konsantrasyonunu artırdığı gösterilmiştir (239). Yapılan bir çalışmada östrustaki dişi sıçanlara intrakranial oksitosin enjeksiyonu sonrasında cinsel aktiviteleri önemli ölçüde uyarılmıştır (240). Çalışmamızda da literatüre uyumlu olarak asprosin grubunun oksitosin seviyesi anlamlı şekilde artmıştır bununla beraber yine cinsel motivasyon parametrelerinde artış görülmüştür.

SİMT ardından yapılan cinsel davranış testinde ise iki grup arasında lordozis derecesi ve oranında anlamlı bir fark görülmemiştir. Buna karşın cinsel davranışta önemli bir parametre olan anogenital araştırma asprosin grubunda anlamlı seviyede artmıştır.

Sıçanlar karşı cinsi etkilemek amacıyla davranışsal hareketler sergiler. Sıçanlar arasındaki iletişim anogenital araştırma (anogenital bölgeyi koklama) ile başlamaktadır. Feromonların etki ettiği bu davranış cinsel uyarılmanın ilk adımıdır. Akabinde cinsel davranışın ve penetrasyonun gerçekleşmesi için dişi hayvan lordozis hareketi göstermektedir (80). Elde edilen veriler birlikte ele alındığında; kokunun cinsel davranış üzerine etkisi olduğu bilindiğinden, OLFR734 reseptörü üzerinden etki eden asprosinin anogenital araştırma hareketini artırmasının koku alma duyusunu kuvvetlendirmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir. Her iki gruptaki hayvanlar da deney sırasında östrus fazında olduğundan 4 nokta skalasına göre lordozis dereceleri beklenen şekilde yaklaşık olarak 3 derece gözlemlenmiştir. Bu sebeple istatistiksel olarak fark olmaması beklenen bir sonuçtur. Lordozis üzerindeki derecelendirmenin farkını ortaya koyabilmek ancak kemik morfolojisi hedefleyen farklı çalışmalar ile mümkün olacaktır. Ayrıca asprosinin lordozis üzerine terapötik etkisi olup olmadığı cinsel disfonksiyon modeli oluşturulmuş deneklerde asprosin uygulamasının yapıldığı ileri çalışmalarda da gösterilebilir. Deney kapsamında lordozis değerlendirmesi yapılması asprosin uygulamasının lordozis derecesine olumsuz etki etmediğini ortaya koymak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonunda alınan serum örneklerinde asprosin düzeyinin ölçümü de yapılmış ve böylece kronik olarak asprosin uygulanan grupta serum asprosin seviyesinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir.

4.4. Kronik Asprosin Uygulamasının Ovaryum Dokusu Üzerine Etkileri

Çalışma kapsamında asprosin uygulamasının over histolojisi ve ilişkili hormonların serum düzeylerine etkisi incelenmiştir. Asprosin grubunda primer ve sekonder folikül sayısının arttığı gösterilmiştir. Serum analizlerinde ise asprosin grubunda FSH ve östrojen düzeyinin arttığı, İnhibin-B düzeyinin azaldığı görülürken; AMH, İnhibin A ve LH düzeyleri değişmemiştir.

Over rezervi bir kadının sahip olduğu toplam folikül sayısını ve dolayısıyla potansiyel üreme kapasitesini ifade eder. Over rezervinin azalması veya foliküllerin düşük kalitesi, gebelik ihtimalini önemli ölçüde etkilemektedir (241, 242). Günümüzde kadın infertilitesindeki artış nedeniyle potansiyel tedavi seçenekleri oluşturmak için ovaryan foliküller üzerine etkili olabilecek ajanların araştırılması önem arz etmektedir. Mevcut tedavi yöntemlerinin başarısızlığı, zamanla folikül rezervlerinin azalmasıyla birlikte yeni ve etkili tedavi stratejilerinin keşfedilmesini önemli kılmaktadır (243, 244). Maylem ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada mandalarda intrafoliküller asprosin enjeksiyonunun folikül büyümesini uyardığı gösterilmiştir. FBN1 ve OR4M1 mRNA'sı folikül aspiratlarında ifade edilmiştir ve dolayısıyla over foliküllerinde asprosin etkisinin olduğu görülmektedir (174). Ancak mRNA'daki bu değişikliklerin proteindeki değişikliklerle paralel olduğunu doğrulamak ve asprosinin türler arasında farklı biyolojik aktiviteye sahip olup olmadığını belirlemek için daha detaylı araştırmalara ihtiyaç vardır.

Primordiyal folikül sayısı over rezervini temsil etmektedir (245). Çalışmamızda iki grup arasında primordiyal folikül sayısında anlamlı fark bulunmamıştır. Total over rezervinin değerlendirilmesinde serum AMH düzeylerinin ölçülmesi de kullanılan yöntemlerdendir (246). Serum AMH seviyesi, over rezervinin iyi bir biyokimyasal göstergesidir (247). Mevcut çalışmada primordiyal folikül sayısının değişmemesine paralel olarak serum AMH

düzeylerinde de değişiklik meydana gelmemiştir. Bu bağlamda sonuçlarımız tutarlılık göstermektedir. Primordiyal folikül sayısı fetal hayatta belirlenmektedir ve yeni doğan dişinin folikül rezervi bellidir (248). Çalışmamızda asprosin uygulaması postnatal 21. Günden itibaren başladığı için primordiyal folikül sayısının değişmemesi beklenen bir bulgudur. Asprosinin folikül rezervine etkisi, maternal asprosin uygulaması sonucu doğan yavruların folikül rezervinin incelendiği ileri çalışmalarla anlaşılabilir.

Kronik asprosin uygulaması primer folikül sayısı artmıştır. Primordiyal folikülden primer foliküle geçiş over içinde farklı kompartmanlardan kaynaklanan otokrin-parakrin sinyallerle gerçekteşmektedir (249-252). Asprosinin hangi kompartman üzerinden etki ettiğinin anlaşılması için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Asprosinin bu şekilde folikül gelişimini uyarıyor olması, mevcut folikülden gebelik oluşma ihtimalini artırabileceği için fertilité üzerindeki potansiyel etkisini ortaya koymaktadır. Bunun yanı sıra AMH büyüyen foliküllerin granuloza hücrelerinde salınmakta olup primordiyal folikülden primer foliküle geçişi inhibe etmekte olan bir hormondur (253, 254). Asprosin uygulaması primer folikül sayısını arttırmasına karşın serum AMH düzeyinde anlamlı bir değişikliğe yol açmamıştır. Buradan yola çıkarak primordiyal folikülden primer foliküle geçişin AMH bağımsız bir yolakla meydana geldiği düşünülebilir.

Primer ve sekonder foliküllerin gelişimi gonadotropinlere duyarlıdır (250). FSH düzeyinin de primer ve sekonder foliküllerde gelişimi indükleyebileceği daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (255). Bu çalışmada, kronik asprosin uygulamasına bağlı olarak primer ve sekonder folikül sayısındaki artış serum FSH düzeylerinin yükselmesi ile ilişkili olabilir. Memelilerde FSH'nın, puberte sonrası foliküler büyüme ve gelişmeyi uyaran önemli bir hormon olduğu bilinmektedir (256-258). Bir diğer gonadotropin olan LH, tersiyer folikülünün oluşumunda ve atretik folikülün korpus luteuma dönüşümünde rol almaktadır (259). Mevcut çalışmamızda da serum LH ve tersiyer folikül sayısında anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

Üreme endokrin fonksiyonlarının değerlendirilmesinde gonadotropin ve seks steroid hormonlarının seviyelerinin belirlenmesi son derece önemlidir (260). Daha önce bahsedildiği gibi asprosinin mandalarda granuloza hücrelerine

enjeksiyonunun folikül büyümesini indüklediği gösterilmiştir ancak bu etkiyi doğrudan östradiol üzerinden gösterip gösterilmediğinin aydınlatılması için daha fazla çalışma gereklidir (174). Mevcut çalışmamızda dişi sıçanlara kronik asprosin uygulaması sonrası yapılan hormon analizlerinde serum FSH ve östrojen konsantrasyonlarında anlamlı değişiklik saptanmıştır. Kronik asprosin uygulaması FSH düzeyini artırarak veya direkt olarak over foliküllerine etki ederek östrojen düzeyini yükseltmiş olabilir. Ayrıca, adenohipofizde FSH salınımını inhibe eden inhibin-B hormonunun seviyesinin kronik asprosin uygulamasına bağlı olarak azaldığı, inhibin-A'nın ise değişmediği tespit edilmiştir (261). Dolayısıyla bu çalışmada, FSH seviyesinin artışında inhibin-B'nin de endokrin rolünün olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda, inhibin B'nin başlangıçta gelişen foliküllerin sayısını veya kalitesini, inhibin A'nın ise folikül olgunluğunu gösterebileceğini düşündürmüştür (262). LH ise gonadların düzgün işleyişinde önemli rol oynar ve çalışmamızda serum LH seviyeleri değişmemiştir. Buradan yola çıkarak asprosin uygulanmış sıçanlarda folikül sayısındaki artışın yanı sıra oluşan foliküllerin kalitesinde de değişiklik oluşturmadığı düşünülebilir.

Daha önce erkek farelerde testis dokusu üzerinde yapılan bir çalışmada asprosinin sperm parametreleri ve dolayısıyla üreme üzerinde potansiyel bir terapötik hedef olabileceği gösterilmiştir (263). Mevcut tez çalışmasıyla da dişi sıçanlarda asprosinin over dokusu üzerine potansiyel olumlu etkileri ilk kez ortaya koyulmuştur.

Sonuç olarak;

Vücudumuzdaki en büyük organ olan beyaz yağ dokunun çok işlevli bir organ olduğu ve adipokin salgılayarak endokrin olarak da etki ettiği bilinmektedir (264). Geçmişte adipokinlerin metabolizma üzerindeki etkileriyle ilişkili çeşitli araştırmalar yapılmış olmasına karşın puberte ve cinsel davranış üzerine etkilerini araştıran çalışmalar sınırlıdır. Beyaz yağ dokunun fazlalığının ya da eksikliğinin farklı türlerde ergenliği, cinsel olgunlaşmayı ve doğurganlığı etkilediği gösterilmiştir (207). Bu sebeple son dönemlerde adipokinlerin üreme ve fertilitte üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (142). Yapılan çalışmalar sonucunda, leptin, adiponektin ve resistin gibi adipokinlerin gonadlar üzerine etki edebileceği ve hipotalamik-hipofizer-gonadal ekseninin fonksiyonlarını

düzenleyebileceği düşünülmektedir (116, 265). Literatüre bakıldığında yeterli besin depolarının göstergesi olan bu hormonların, merkezi sinir sistemi üzerine etki ederek ve üreme organlarını hedef alarak üreme işlevinde önemli rol alabildiği görülmektedir (142). Ancak yeni bir adipokin olan ve adipoz doku artışıyla serum düzeyleri yükselen asprosin hormonunun glikoz metabolizması gibi önemli metabolik yollardaki etkinliği incelenmesine karşın dişi üreme sistemi üzerine etkisi henüz araştırılmamıştır. Ayrıca asprosinin olfaktör reseptör ile etki etmesi nedeniyle de puberte ve cinsel davranışta potansiyel bir rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Bu düşünceden yola çıkarak yapılan tez çalışması sonucunda, kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma ve üreme sistemi üzerine etkileri ilk kez gösterilmiştir. Dişi sıçanlarda, kronik asprosin verilen grubun siklusu incelendiğinde ilk östrus fazının daha erken meydana geldiği gösterilmiştir. Histolojik olarak kronik asprosin uygulamasının primer ve sekonder folikül sayısında artışa neden olmuştur. Sonuç olarak over steroidogenezi ve folikülogenezdeki değişikliklerin dişi üreme sistemi üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Mevcut çalışmayla kronik asprosin uygulamasının dişi sıçanlarda cinsel motivasyon, cinsel performans ve koku duyusu üzerindeki etkisi ilk kez incelenmiştir. Yapılan davranış testleri sonucunda kronik asprosin uygulamasının koku duyusunu güçlendirdiği, cinsel motivasyonu arttırdığı, cinsel performans parametrelerinden biri olan anogenital araştırmayı arttırdığı gösterilmiştir. Endokrin sistem üzerindeki etkileri incelendiğinde ise üreme sisteminde önemli rol oynayan FSH, östrojen ve oksitosin hormonlarının düzeylerinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar asprosinin dişilerde üreme fizyolojisini olumlu yönde etkileyen önemli bir ajan olduğunu göstermektedir. Bu etkinin mekanizmasının tam olarak aydınlatılabilmesi için ileri çalışmalara referans olabileceği düşünülmektedir.

5. KAYNAKLAR

1. Kronenberg HM, Shlomo Melmed M, Polonsky KS, Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM. Williams textbook of endocrinology. 2002.
2. Plant TM. Neurophysiology of puberty. *Journal of Adolescent Health*. 2002;31(6):185-191.
3. Knobil E. The hypothalamic gonadotrophic hormone releasing hormone (GnRH) pulse generator in the rhesus monkey and its neuroendocrine control. *Human Reproduction*. 1988;3(1):29-31.
4. Grumbach MM, Styne DM. Puberty: ontogeny, neuroendocrinology, physiology, and disorders. Williams textbook of endocrinology. 1998;9(1509):e1625.
5. Patton GC, Viner R. Pubertal transitions in health. *The lancet*. 2007;369(9567):1130-1139.
6. Ojeda S, Urbanski H, Knobil E. Physiology of reproduction. Puberty in the rat. 1994;2:363-409.
7. Styne DM. Physiology of puberty. *Hormone Research in Paediatrics*. 1994;41(Suppl. 2):3-6.
8. Ojeda SR, Roth C, Mungenast A, Heger S, Mastronardi C, Parent AS, et al. Neuroendocrine mechanisms controlling female puberty: new approaches, new concepts. *international journal of andrology*. 2006;29(1):256-263.
9. Ebling FJ. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction*. 2005;129(6):675-683.
10. Terasawa E, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocrine reviews*. 2001;22(1):111-151.
11. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reproductive biology and endocrinology*. 2013;11(1):1-15.
12. Wray S. From nose to brain: development of gonadotrophin-releasing hormone-1 neurones. *Journal of neuroendocrinology*. 2010;22(7):743-753.

13. Santen R. Is aromatization of testosterone to estradiol required for inhibition of luteinizing hormone secretion in men? *The Journal of clinical investigation*. 1975;56(6):1555-1563.
14. Spratt DI, O'Dea LS, Schoenfeld D, Butler J, Rao PN, Crowley Jr WF. Neuroendocrine-gonadal axis in men: frequent sampling of LH, FSH, and testosterone. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*. 1988;254(5):E658-E66.
15. Kaprara A, Huhtaniemi IT. The hypothalamus-pituitary-gonad axis: tales of mice and men. *Metabolism*. 2018;86:3-17.
16. Gore AC. Neuroendocrine targets of endocrine disruptors. *Hormones*. 2010;9(1):16-27.
17. Sultan C, Gaspari L, Maimoun L, Kalfa N, Paris F. Disorders of puberty. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2018;48:62-89.
18. Crown A, Clifton DK, Steiner RA. Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology*. 2007;86(3):175-182.
19. Terasawa E, Kurian JR, Keen KL, Shiel NA, Colman RJ, Capuano SV. Body weight impact on puberty: effects of high-calorie diet on puberty onset in female rhesus monkeys. *Endocrinology*. 2012;153(4):1696-1705.
20. Wahab F, Shahab M, Behr R. The involvement of gonadotropin inhibitory hormone and kisspeptin in the metabolic regulation of reproduction. *The Journal of Endocrinology*. 2015;225(2):R49-66.
21. Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1996;88(23):1731-1737.
22. Kotani M, Detheux M, Vandenberghe A, Communi D, Vanderwinden J-M, Le Poul E, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(37):34631-34636.

23. Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. From KISS1 to kisspeptins: an historical perspective and suggested nomenclature. *Peptides*. 2009;30(1):4-9.
24. Clements MK, McDonald TP, Wang R, Xie G, O'Dowd BF, George SR, et al. FMRamide-related neuropeptides are agonists of the orphan G-protein-coupled receptor GPR54. *Biochemical and biophysical research communications*. 2001;284(5):1189-1193.
25. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001;411(6837):613-617.
26. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(31):28969-28975.
27. Liu X, Lee K, Herbison AE. Kisspeptin excites gonadotropin-releasing hormone neurons through a phospholipase C/calcium-dependent pathway regulating multiple ion channels. *Endocrinology*. 2008;149(9):4605-4614.
28. Constantin S, Caligioni CS, Stojilkovic S, Wray S. Kisspeptin-10 facilitates a plasma membrane-driven calcium oscillator in gonadotropin-releasing hormone-1 neurons. *Endocrinology*. 2009;150(3):1400-1412.
29. Gaytan F, Gaytan M, Castellano JM, Romero M, Roa J, Aparicio B, et al. KiSS-1 in the mammalian ovary: distribution of kisspeptin in human and marmoset and alterations in KiSS-1 mRNA levels in a rat model of ovulatory dysfunction. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;296(3):E520-E531.
30. Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, et al. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology*. 2004;145(9):4073-4077.

31. Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus; sexual dimorphism and projections to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*. 2006;147(12):5817-5825.
32. Rance NE, Young III WS, McMullen NT. Topography of neurons expressing luteinizing hormone-releasing hormone gene transcripts in the human hypothalamus and basal forebrain. *Journal of Comparative Neurology*. 1994;339(4):573-586.
33. d'Anglemont de Tassigny X, Fagg LA, Carlton MB, Colledge WH. Kisspeptin can stimulate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release by a direct action at GnRH nerve terminals. *Endocrinology*. 2008;149(8):3926-3932.
34. Herbison AE, d'Anglemont de Tassigny X, Doran J, Colledge WH. Distribution and postnatal development of Gpr54 gene expression in mouse brain and gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*. 2010;151(1):312-321.
35. Irwig MS, Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Popa SM, Cunningham MJ, et al. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology*. 2005;80(4):264-272.
36. Novaira HJ, Ng Y, Wolfe A, Radovick S. Kisspeptin increases GnRH mRNA expression and secretion in GnRH secreting neuronal cell lines. *Molecular and cellular endocrinology*. 2009;311(1-2):126-134.
37. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(6):2129-2134.
38. Thompson E, Patterson M, Murphy K, Smith K, Dhillon W, Todd J, et al. Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Journal of neuroendocrinology*. 2004;16(10):850-858.

39. Dhillon WS, Chaudhri OB, Patterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK, et al. Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(12):6609-6615.
40. Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, et al. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2007;92(10):3958-3966.
41. Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005;102(5):1761-1766.
42. Topaloglu AK, Tello JA, Kotan LD, Ozbek MN, Yilmaz MB, Erdogan S, et al. Inactivating KISS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(7):629-635.
43. Clarke H, Dhillon WS, Jayasena CN. Comprehensive review on kisspeptin and its role in reproductive disorders. *Endocrinology and Metabolism*. 2015;30(2):124-141.
44. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiological reviews*. 2012;92(3):1235-1316.
45. Nieuwenhuis D, Pujol-Gualdo N, Arnoldussen IA, Kiliaan AJ. Adipokines: A gear shift in puberty. *Obesity reviews*. 2020;21(6):e13005.
46. Roa J, Tena-Sempere M. Connecting metabolism and reproduction: roles of central energy sensors and key molecular mediators. *Molecular and cellular endocrinology*. 2014;397(1-2):4-14.
47. Kennedy G, Mitra J. Body weight and food intake as initiating factors for puberty in the rat. *The Journal of physiology*. 1963;166(2):408.

48. Frisch RE, Revelle R. Height and weight at menarche and a hypothesis of critical body weights and adolescent events. *Science*. 1970;169(3943):397-399.
49. Frisch RE, McArthur JW. Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight for height necessary for their maintenance or onset. *Science*. 1974;185(4155):949-951.
50. Cameron JL. Metabolic cues for the onset of puberty. *Hormone Research in Paediatrics*. 1991;36(3-4):97-103.
51. Sanchez-Garrido MA, Tena-Sempere M. Metabolic control of puberty: roles of leptin and kisspeptins. *Hormones and behavior*. 2013;64(2):187-194.
52. Qiu X, Dowling AR, Marino JS, Faulkner LD, Bryant B, Brüning JC, et al. Delayed puberty but normal fertility in mice with selective deletion of insulin receptors from Kiss1 cells. *Endocrinology*. 2013;154(3):1337-1348.
53. Klenke U, Taylor-Burds C, Wray S. Metabolic influences on reproduction: adiponectin attenuates GnRH neuronal activity in female mice. *Endocrinology*. 2014;155(5):1851-1863.
54. Sliwowska JH, Fergani C, Gawalek M, Skowronska B, Fichna P, Lehman MN. Insulin: its role in the central control of reproduction. *Physiology & behavior*. 2014;133:197-206.
55. Wahab F, Atika B, Shahab M. Kisspeptin as a link between metabolism and reproduction: evidences from rodent and primate studies. *Metabolism*. 2013;62(7):898-910.
56. Cameron JL. Regulation of reproductive hormone secretion in primates by short-term changes in nutrition. *Reviews of Reproduction*. 1996;1:117-126.
57. Tena-Sempere M. Ghrelin as a pleiotrophic modulator of gonadal function and reproduction. *Nature clinical practice Endocrinology & metabolism*. 2008;4(12):666-674.
58. Witkoś J, Wróbel P. Menstrual disorders in amateur dancers. *BMC women's health*. 2019;19(1):1-6.

59. Frisch R, Hegsted D, Yoshinaga K. Body weight and food intake at early estrus of rats on a high-fat diet. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1975;72(10):4172-4176.
60. Ulker N, Yardimci A, Coban E, Ozcan M, Canpolat S. Chronic irisin exposure decreases sexual incentive motivation in female rats. *Physiology & Behavior*. 2021;232:113341.
61. Hu Z, Ai N, Chen W, Wong QW-L, Ge W. Leptin and Its Signaling Are Not Involved in Zebrafish Puberty Onset. *Biology of Reproduction*. 2022;106(5):928-42. doi: 10.1093/biolre/ioac005.
62. Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. *Science*. 1997;275(5296):88-90.
63. Ruscica M, Macchi C, Gandini S, Morlotti B, Erzegovesi S, Bellodi L, et al. Free and bound plasma leptin in anorexia nervosa patients during a refeeding program. *Endocrine*. 2016;51(2):380-383.
64. da Silva Faria T, da Fonte Ramos C, Sampaio FJ. Puberty onset in the female offspring of rats submitted to protein or energy restricted diet during lactation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2004;15(2):123-127.
65. Moran M, Ayala M, Gallegos E, Romero J, Chavira R, Damián-Matsumura P, et al. Effects of systemic administration or intrabursal injection of serotonin on puberty, first ovulation and follicular development in rats. *Reproduction, Fertility and Development*. 2013;25(8):1105-1114.
66. Sisk CL, Richardson HN, Chappell PE, Levine JE. In vivo gonadotropin-releasing hormone secretion in female rats during peripubertal development and on proestrus. *Endocrinology*. 2001;142(7):2929-2936.
67. Holder MK, Blaustein JD. Puberty and adolescence as a time of vulnerability to stressors that alter neurobehavioral processes. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2014;35(1):89-110.

68. Argiolas A, Melis MR. Neuropeptides and central control of sexual behaviour from the past to the present: a review. *Progress in neurobiology*. 2013;108:80-107.
69. Argiolas A. Male erectile dysfunction: Chemical pharmacology of penile erection. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*. 2005;2(1):31-6.
70. Saenz de Tejada I, Angulo J, Celtek S, González-Cadavid N, Heaton J, Pickard R, et al. Physiology of erectile function. *The journal of sexual medicine*. 2004;1(3):254-265.
71. Pfaus JG, Kippin TE, Centeno S. Conditioning and sexual behavior: a review. *Hormones and Behavior*. 2001;40(2):291-321.
72. Plant TM, Zeleznik AJ. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*: Academic Press; 2014.
73. Krüger TH, Giraldi A, Tenbergen G. *The neurobiology of sexual responses and its clinical relevance*. *Psychiatry and Sexual Medicine*: Springer; 2021. p. 71-84.
74. Ågmo A, Turi AL, Ellingsen E, Kaspersen H. Preclinical models of sexual desire: conceptual and behavioral analyses. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2004;78(3):379-404.
75. Pfaus JG. *Homologies of animal and human sexual behaviors*. *Hormones and behavior*. 1996.
76. Giuliano F, Pfaus J, Balasubramanian S, Hedlund P, Hisasue S-i, Marson L, et al. Experimental models for the study of female and male sexual function. *The journal of sexual medicine*. 2010;7(9):2970-2995.
77. Beach FA. Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Hormones and behavior*. 1976;7(1):105-138.
78. Prokosch ML, Airington Z, Murray DR. Investigating the relationship between olfactory acuity, disgust, and mating strategies. *Evolution and Human Behavior*. 2021;42(2):113-120.

79. Lakhtakia R. The history of diabetes mellitus. *Sultan Qaboos University Medical Journal*. 2013;13(3):368.
80. Nelson RJ. *An introduction to behavioral endocrinology*: Sinauer Associates; 2005.
81. Flanagan-Cato LM, McEwen BS. Pattern of Fos and Jun expression in the female rat forebrain after sexual behavior. *Brain research*. 1995;673(1):53-60.
82. Musatov S, Chen W, Pfaff DW, Kaplitt MG, Ogawa S. RNAi-mediated silencing of estrogen receptor α in the ventromedial nucleus of hypothalamus abolishes female sexual behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103(27):10456-10460.
83. Rissman EF, Wersinger SR, Fugger HN, Foster TC. Sex with knockout models: behavioral studies of estrogen receptor α . *Brain research*. 1999;835(1):80-90.
84. DiBenedictis BT, Ingraham KL, Baum MJ, Cherry JA. Disruption of urinary odor preference and lordosis behavior in female mice given lesions of the medial amygdala. *Physiology & behavior*. 2012;105(2):554-559.
85. Kercmar J, Tobet SA, Majdic G. Social isolation during puberty affects female sexual behavior in mice. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2014;8:337.
86. Frohmader KS, Pitchers KK, Balfour ME, Coolen LM. Mixing pleasures: review of the effects of drugs on sex behavior in humans and animal models. *Hormones and behavior*. 2010;58(1):149-162.
87. Afonso VM, Sison M, Lovic V, Fleming AS. Medial prefrontal cortex lesions in the female rat affect sexual and maternal behavior and their sequential organization. *Behavioral neuroscience*. 2007;121(3):515.
88. Gelez H, Greggain-Mohr J, Pfaus JG, Allers KA, Giuliano F. Flibanserin treatment increases appetitive sexual motivation in the female rat. *The Journal of Sexual Medicine*. 2013;10(5):1231-1239.

89. Angoa-Pérez M, Kuhn DM. Neuroanatomical dichotomy of sexual behaviors in rodents: a special emphasis on brain serotonin. *Behavioural pharmacology*. 2015;26(6):595.
90. Erskine MS. Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. *Hormones and behavior*. 1989;23(4):473-502.
91. Martinez LA, Petrusis A. The bed nucleus of the stria terminalis is critical for sexual solicitation, but not for opposite-sex odor preference, in female Syrian hamsters. *Hormones and behavior*. 2011;60(5):651-659.
92. Heijkoop R, Huijgens PT, Snoeren EM. Assessment of sexual behavior in rats: The potentials and pitfalls. *Behavioural Brain Research*. 2018;352:70-80.
93. Tennent BJ, Smith ER, Davidson JM. The effects of estrogen and progesterone on female rat proceptive behavior. *Hormones and Behavior*. 1980;14(1):65-75.
94. Chu X, Ågmo A. Sociosexual behaviors during the transition from non-receptivity to receptivity in rats housed in a seminatural environment. *Behavioural processes*. 2015;113:24-34.
95. Hardy DF, Debold JF. Effects of mounts without intromission upon the behavior of female rats during the onset of estrogen-induced heat. *Physiology & Behavior*. 1971;7(4):643-645.
96. Jennings KJ, de Lecea L. Neural and hormonal control of sexual behavior. *Endocrinology*. 2020;161(10):bqaa150.
97. Hall JE, Hall ME. *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*: Elsevier Health Sciences; 2020.
98. Ache BW, Young JM. Olfaction: diverse species, conserved principles. *Neuron*. 2005;48(3):417-430.
99. Stern K, McClintock MK. Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature*. 1998;392(6672):177-179.

100. Spehr M, Gisselmann G, Poplawski A, Riffell JA, Wetzel CH, Zimmer RK, et al. Identification of a testicular odorant receptor mediating human sperm chemotaxis. *Science*. 2003;299(5615):2054-2058.
101. Topaloglu AK, Kotan LD. Molecular causes of hypogonadotropic hypogonadism. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. 2010;22(4):264-270.
102. Topaloğlu AK. Update on the genetics of idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*. 2017;9(Suppl 2):113.
103. Van Battum EY, Brignani S, Pasterkamp RJ. Axon guidance proteins in neurological disorders. *The Lancet Neurology*. 2015;14(5):532-546.
104. Maione L, Dwyer AA, Francou B, Guiochon-Mantel A, Binart N, Bouligand J, et al. Genetic counseling for congenital hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome: new challenges in the era of oligogenism and next-generation sequencing. *European Journal of Endocrinology*. 2018;178(3).
105. Kotan Ld, Dilek Sö, Akkuş G, Turan İ, Yüksel B, Topaloğlu AK. Hipogonadotropik Hipogonadizm ve Kallmann Sendromunda Yeni Tanımlanan DCC/NTN1 Mutasyonları. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*. 2020;32(1):68-72.
106. Yoon H, Enquist L, Dulac C. Olfactory inputs to hypothalamic neurons controlling reproduction and fertility. *Cell*. 2005;123(4):669-682.
107. Stowers L, Kuo T-H. Mammalian pheromones: emerging properties and mechanisms of detection. *Current opinion in neurobiology*. 2015;34:103-9.
108. Novotny M. Pheromones, binding proteins and receptor responses in rodents. *Biochemical society transactions*. 2003;31(1):117-122.
109. Kaur AW, Ackels T, Kuo T-H, Cichy A, Dey S, Hays C, et al. Murine pheromone proteins constitute a context-dependent combinatorial code governing multiple social behaviors. *Cell*. 2014;157(3):676-688.

110. Slade J, Watson M, Kelly T, Gloor G, Bernards M, MacDougall-Shackleton E. Chemical composition of preen wax reflects major histocompatibility complex similarity in songbirds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2016;283(1842):20161966.
111. Brown RE. Mammalian social odors: a critical review. *Advances in the Study of Behavior*. 1979;10:103-162.
112. Plettner E. Insect pheromone olfaction: new targets for the design of species-selective pest control agents. *Current medicinal chemistry*. 2002;9(10):1075-1085.
113. Boehm U, Zou Z, Buck LB. Feedback loops link odor and pheromone signaling with reproduction. *Cell*. 2005;123(4):683-695.
114. Hellier V, Brock O, Candlish M, Desroziers E, Aoki M, Mayer C, et al. Female sexual behavior in mice is controlled by kisspeptin neurons. *Nature communications*. 2018;9(1):1-12.
115. Miao Y, Qin H, Zhong Y, Huang K, Rao C. Novel adipokine asprosin modulates browning and adipogenesis in white adipose tissue. *Journal of Endocrinology*. 2021;249(2):83-93.
116. Tersigni C, Di Nicuolo F, D'Ippolito S, Veglia M, Castellucci M, Di Simone N. Adipokines: new emerging roles in fertility and reproduction. *Obstetrical & gynecological survey*. 2011;66(1):47-63.
117. Mitchell M, Armstrong DT, Robker RL, Norman RJ. Adipokines: implications for female fertility and obesity. *Reproduction*. 2005;130(5):583-97. doi: 10.1530/rep.1.00521.
118. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-252.
119. Saladin R, De Vos P, Guerre-Millot M, Leturque A, Girard J, Staels B, et al. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature*. 1995;377(6549):527-528.

120. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*. 1996;137(7):3144-3147.
121. Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nature genetics*. 1996;12(3):318-320.
122. Manfredi-Lozano M, Roa J, Tena-Sempere M. Connecting metabolism and gonadal function: novel central neuropeptide pathways involved in the metabolic control of puberty and fertility. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2018;48:37-49.
123. Zurita-Cruz JN, Villasís-Keever MA, Manuel-Apolinar L, Damasio-Santana L, Gutierrez-Gonzalez A, Wakida-Kusunoki G, et al. Altered cardiometabolic profile in girls with central precocious puberty and adipokines: a propensity score matching analysis. *Cytokine*. 2021;148:155660.
124. Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, Essack M, Arya S, Stewart AJ, et al. Leptin and obesity: role and clinical implication. *Frontiers in Endocrinology*. 2021;12:585887.
125. Kang MJ, Oh YJ, Shim YS, Baek JW, Yang S, Hwang IT. The usefulness of circulating levels of leptin, kisspeptin, and neurokinin B in obese girls with precocious puberty. *Gynecological Endocrinology*. 2018;34(7):627-630.
126. Wade GN, Lempicki RL, Panicker AK, Frisbee RM, Blaustein JD. Leptin facilitates and inhibits sexual behavior in female hamsters. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1997;272(4):R1354-R8.
127. Caminos JE, Nogueiras R, Gallego Ra, Bravo S, Tovar S, García-Caballero T, et al. Expression and regulation of adiponectin and receptor in human and rat placenta. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(7):4276-4286.

128. Psilopanagioti A, Papadaki H, Kranioti EF, Alexandrides TK, Varakis JN. Expression of adiponectin and adiponectin receptors in human pituitary gland and brain. *Neuroendocrinology*. 2009;89(1):38-47.
129. Piñeiro R, Iglesias MJ, Gallego R, Raghay K, Eiras S, Rubio J, et al. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS letters*. 2005;579(23):5163-5169.
130. Delaigle AIM, Jonas J-C, Bauche IB, Cornu O, Brichard SM. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology*. 2004;145(12):5589-5597.
131. Chabrolle C, Tosca L, Dupont J. Regulation of adiponectin and its receptors in rat ovary by human chorionic gonadotrophin treatment and potential involvement of adiponectin in granulosa cell steroidogenesis. *Reproduction*. 2007;133(4):719-731.
132. Diot M, Reverchon M, Rame C, Froment P, Brillard J-P, Brière S, et al. Expression of adiponectin, chemerin and visfatin in plasma and different tissues during a laying season in turkeys. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2015;13(1):1-14.
133. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003;423(6941):762-769.
134. Fève B, Bastard J-P. Adiponectine et carcinogenèse mammaire: rôle physiopathologique et intérêt thérapeutique. *Obésité*. 2014;9(3):191-196.
135. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(7):1784-1792.
136. Yamauchi T, Iwabu M, Okada-Iwabu M, Kadowaki T. Adiponectin receptors: a review of their structure, function and how they work. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2014;28(1):15-23.

137. Dobrzyn K, Smolinska N, Kiezun M, Szeszko K, RYTELEWSKA E, KISIELEWSKA K, et al. Adiponectin: a new regulator of female reproductive system. *International journal of endocrinology*. 2018;2018.
138. Ledoux S, Campos DB, Lopes FL, Dobias-Goff M, Palin M-F, Murphy BD. Adiponectin induces periovulatory changes in ovarian follicular cells. *Endocrinology*. 2006;147(11):5178-5186.
139. Nishizawa H, Shimomura I, Kishida K, Maeda N, Kuriyama H, Nagaretani H, et al. Androgens decrease plasma adiponectin, an insulin-sensitizing adipocyte-derived protein. *Diabetes*. 2002;51(9):2734-2741.
140. Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenez-Chillaron JC, et al. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes*. 2003;52(2):268-276.
141. Böttner A, Kratzsch Jr, Müller G, Kapellen TM, Blüher S, Keller E, et al. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(8):4053-4061.
142. Budak E, Sánchez MF, Bellver J, Cerveró A, Simón C, Pellicer A. Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system. *Fertility and sterility*. 2006;85(6):1563-1581.
143. Comninos AN, Jayasena CN, Dhilló WS. The relationship between gut and adipose hormones, and reproduction. *Human reproduction update*. 2014;20(2):153-174.
144. Tsatsanis C, Dermitzaki E, Avgoustinaki P, Malliaraki N, Mytaras V, Margioris AN. The impact of adipose tissue-derived factors on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. *Hormones*. 2015;14(4):549-562.

145. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Molecular and cellular biology*. 1994.
146. Xie H, Tang S-Y, Luo X-H, Huang J, Cui R-R, Yuan L-Q, et al. Insulin-like effects of visfatin on human osteoblasts. *Calcified tissue international*. 2007;80:201-210.
147. Brown JE, Onyango DJ, Ramanjaneya M, Conner AC, Patel ST, Dunmore SJ, et al. Visfatin regulates insulin secretion, insulin receptor signalling and mRNA expression of diabetes-related genes in mouse pancreatic β -cells. *Journal of molecular endocrinology*. 2010;44(3):171-178.
148. Jacques C, Holzenberger M, Mladenovic Z, Salvat C, Pecchi E, Berenbaum F, et al. Proinflammatory actions of visfatin/nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt) involve regulation of insulin signaling pathway and Nampt enzymatic activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2012;287(18):15100-15108.
149. Romacho T, Valencia I, Ramos-González M, Vallejo S, López-Esteban M, Lorenzo O, et al. Visfatin/eNampt induces endothelial dysfunction in vivo: A role for Toll-Like Receptor 4 and NLRP3 inflammasome. *Scientific reports*. 2020;10(1):5386.
150. Managò A, Audrito V, Mazzola F, Sorci L, Gaudino F, Gizzi K, et al. Extracellular nicotinate phosphoribosyltransferase binds Toll like receptor 4 and mediates inflammation. *Nature Communications*. 2019;10(1):4116.
151. Ons E, Gertler A, Buyse J, Lebihan-Duval E, Bordas A, Goddeeris B, et al. Visfatin gene expression in chickens is sex and tissue dependent. *Domestic animal endocrinology*. 2010;38(2):63-74.
152. Riammer S, Garten A, Schaab M, Grunewald S, Kiess W, Kratzsch J, et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase production in human spermatozoa is influenced by maturation stage. *Andrology*. 2016;4(6):1045-1053.

153. Jeremy M, Gurusubramanian G, Roy VK. Localization pattern of visfatin (NAMPT) in d-galactose induced aged rat testis. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*. 2017;211:46-54.
154. Meder W, Wendland M, Busmann A, Kutzleb C, Spodsberg N, John H, et al. Characterization of human circulating TIG2 as a ligand for the orphan receptor ChemR23. *FEBS letters*. 2003;555(3):495-499.
155. Wittamer V, Franssen J-D, Vulcano M, Mirjolet J-F, Le Poul E, Migeotte I, et al. Specific recruitment of antigen-presenting cells by chemerin, a novel processed ligand from human inflammatory fluids. *The Journal of experimental medicine*. 2003;198(7):977-985.
156. Mattern A, Zellmann T, Beck-Sickinger AG. Processing, signaling, and physiological function of chemerin. *IUBMB life*. 2014;66(1):19-26.
157. Brunetti L, Di Nisio C, Recinella L, Chiavaroli A, Leone S, Ferrante C, et al. Effects of vaspin, chemerin and omentin-1 on feeding behavior and hypothalamic peptide gene expression in the rat. *Peptides*. 2011;32(9):1866-1871.
158. Bozaoglu K, Bolton K, McMillan J, Zimmet P, Jowett J, Collier G, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome. *Endocrinology*. 2007;148(10):4687-4694.
159. Issa ME, Muruganandan S, Ernst MC, Parlee SD, Zabel BA, Butcher EC, et al. Chemokine-like receptor 1 regulates skeletal muscle cell myogenesis. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2012;302(11):C1621-C31.
160. Goralski KB, McCarthy TC, Hanniman EA, Zabel BA, Butcher EC, Parlee SD, et al. Chemerin, a novel adipokine that regulates adipogenesis and adipocyte metabolism. *Journal of Biological Chemistry*. 2007;282(38):28175-28188.
161. Garces MF, Sanchez E, Ruíz-Parra AI, Rubio-Romero JA, Angel-Müller E, Suarez MA, et al. Serum chemerin levels during normal human pregnancy. *Peptides*. 2013;42:138-143.

162. Smolinska N, Kiezun M, Dobrzyn K, Rytelwska E, Kisielewska K, Gudelska M, et al. Expression of chemerin and its receptors in the porcine hypothalamus and plasma chemerin levels during the oestrous cycle and early pregnancy. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(16):3887.
163. Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW, Gurney A, Henzel W, et al. FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family. *The EMBO journal*. 2000.
164. Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409(6818):307-312.
165. Nogueiras R, Gallego R, Gualillo O, Caminos JE, García-Caballero T, Casanueva FF, et al. Resistin is expressed in different rat tissues and is regulated in a tissue-and gender-specific manner. *FEBS letters*. 2003;548(1-3):21-27.
166. Adeghate E. An update on the biology and physiology of resistin. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*. 2004;61:2485-2496.
167. McTernan PG, McTernan CL, Chetty R, Jenner K, Fisher FM, Lauer MN, et al. Increased resistin gene and protein expression in human abdominal adipose tissue. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2002;87(5):2407-2410.
168. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RV, et al. Resistin/Fizz3 expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor- γ action in humans. *Diabetes*. 2001;50(10):2199-2202.
169. Kim K-H, Zhao L, Moon Y, Kang C, Sul HS. Dominant inhibitory adipocyte-specific secretory factor (ADSF)/resistin enhances adipogenesis and improves insulin sensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(17):6780-6785.

170. Rak-Mardyla A, Durak M, Lucja Gregoraszczyk E. Effects of resistin on porcine ovarian follicle steroidogenesis in prepubertal animals: an in vitro study. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2013;11:1-9.
171. Seow KM, Juan CC, Wu LY, Hsu YP, Yang WM, Tsai YL, et al. Serum and adipocyte resistin in polycystic ovary syndrome with insulin resistance. *Human Reproduction*. 2004;19(1):48-53.
172. Dafopoulos K, Sourlas D, Kallitsaris A, Pournaras S, Messinis IE. Blood ghrelin, resistin, and adiponectin concentrations during the normal menstrual cycle. *Fertility and sterility*. 2009;92(4):1389-1394.
173. Romere C, Duerschmid C, Bournat J, Constable P, Jain M, Xia F, et al. Asprosin, a Fasting-Induced Glucogenic Protein Hormone. *Cell*. 2016;165(3):566-79. Epub 2016/04/19. doi: 10.1016/j.cell.2016.02.063. PubMed PMID: 27087445; PubMed Central PMCID: PMC4852710.
174. Maylem ERS, Spicer LJ, Atabay EP, Atabay EC, Batalha I, Schutz LF. A potential role of fibrillin-1 (FBN1) mRNA and asprosin in follicular development in water buffalo. *Theriogenology*. 2022;178:67-72.
175. Maylem ERS, Spicer LJ, Batalha I, Schutz LF. Discovery of a possible role of asprosin in ovarian follicular function. *Journal of Molecular Endocrinology*. 2021;66(1):35-44.
176. Ugur K, Aydin S. Saliva and blood asprosin hormone concentration associated with obesity. *International journal of endocrinology*. 2019;2019.
177. Kocaman N, Kuloğlu T. Expression of asprosin in rat hepatic, renal, heart, gastric, testicular and brain tissues and its changes in a streptozotocin-induced diabetes mellitus model. *Tissue and Cell*. 2020;66:101397.
178. Poher A-L, Tschöp MH, Müller TD. Ghrelin regulation of glucose metabolism. *Peptides*. 2018;100:236-242.
179. Jung TW, Kim HC, Kim HU, Park T, Park J, Kim U, et al. Asprosin attenuates insulin signaling pathway through PKC δ -activated ER stress and inflammation in skeletal muscle. *Journal of cellular physiology*. 2019;234(11):20888-20899.

180. Baykus Y, Yavuzkir S, Ustebay S, Ugur K, Deniz R, Aydin S. Asprosin in umbilical cord of newborns and maternal blood of gestational diabetes, preeclampsia, severe preeclampsia, intrauterine growth retardation and macrosemic fetus. *Peptides*. 2019;120:170132.
181. Ko JR, Seo DY, Kim TN, Park SH, Kwak H-B, Ko KS, et al. Aerobic exercise training decreases hepatic asprosin in diabetic rats. *Journal of clinical medicine*. 2019;8(5):666.
182. Zhang Z, Tan Y, Zhu L, Zhang B, Feng P, Gao E, et al. Asprosin improves the survival of mesenchymal stromal cells in myocardial infarction by inhibiting apoptosis via the activated ERK1/2-SOD2 pathway. *Life sciences*. 2019;231:116554.
183. Liu L, Liu Y, Huang M, Zhang M, Zhu C, Chen X, et al. The effects of asprosin on exercise-intervention in metabolic diseases. *Frontiers in Physiology*. 2022:1285.
184. Duerrschmid C, He Y, Wang C, Li C, Bournat JC, Romere C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature medicine*. 2017;23(12):1444-53. Epub 2017/11/07. doi: 10.1038/nm.4432. PubMed PMID: 29106398; PubMed Central PMCID: PMC5720914.
185. Wang C-Y, Lin T-A, Liu K-H, Liao C-H, Liu Y-Y, Wu VC-C, et al. Serum asprosin levels and bariatric surgery outcomes in obese adults. *International journal of obesity*. 2019;43(5):1019-1025.
186. Wang M, Yin C, Wang L, Liu Y, Li H, Li M, et al. Serum asprosin concentrations are increased and associated with insulin resistance in children with obesity. *Annals of nutrition and metabolism*. 2019;75(4):205-212.
187. Long W, Xie X, Du C, Zhao Y, Zhang C, Zhan D, et al. Decreased circulating levels of asprosin in obese children. *Hormone research in paediatrics*. 2019;91(4):271-277.

188. Duerrschmid C, He Y, Wang C, Li C, Bournat JC, Romere C, et al. Asprosin is a centrally acting orexigenic hormone. *Nature medicine*. 2017;23(12):1444-1453.
189. Deniz R, Yavuzkir S, Ugur K, Ustebay DU, Baykus Y, Ustebay S, et al. Subfatin and asprosin, two new metabolic players of polycystic ovary syndrome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2021;41(2):279-284.
190. Alan M, Gurlek B, Yilmaz A, Aksit M, Aslanipour B, Gulhan I, et al. Asprosin: a novel peptide hormone related to insulin resistance in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*. 2019;35(3):220-223.
191. Li X, Liao M, Shen R, Zhang L, Hu H, Wu J, et al. Plasma asprosin levels are associated with glucose metabolism, lipid, and sex hormone profiles in females with metabolic-related diseases. *Mediators of inflammation*. 2018;2018.
192. Leonard AN, Shill AL, Thackray AE, Stensel DJ, Bishop NC. Fasted plasma asprosin concentrations are associated with menstrual cycle phase, oral contraceptive use and training status in healthy women. *European journal of applied physiology*. 2021;121(3):793-801. Epub 2020/12/09. doi: 10.1007/s00421-020-04570-8. PubMed PMID: 33289860; PubMed Central PMCID: PMC7892699.
193. Wei F, Long A, Wang Y. The Asprosin-OLFR734 hormonal signaling axis modulates male fertility. *Cell discovery*. 2019;5(1):1-3.
194. Korenbrot C, Huhtaniemi I, Weiner R. Preputial separation as an external sign of pubertal development in the male rat. *Biology of reproduction*. 1977;17(2):298-303.
195. Marcondes F, Bianchi F, Tanno A. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Brazilian journal of biology*. 2002;62:609-614.

196. Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. *Toxicologic pathology*. 2015;43(6):776-793.
197. Badonnel K, Lacroix M-C, Durieux D, Monnerie R, Caillol M, Baly C. Rat strains with different metabolic statuses differ in food olfactory-driven behavior. *Behavioural brain research*. 2014;270:228-239.
198. Chan JS, Waldinger MD, Olivier B, Oosting RS. Drug-Induced Sexual Dysfunction in Rats. *Current Protocols in Neuroscience*. 2010;53(1):9.34. 1-9.11.
199. Jones SL, Farrell S, Gregory JG, Pfaus JG. Sensitization of sexual behavior in ovariectomized rats by chronic estradiol treatment. *Hormones and behavior*. 2013;64(1):8-18.
200. Adams S, Heckard D, Hassell J, Uphouse L. Factors influencing fluoxetine-induced sexual dysfunction in female rats. *Behavioural brain research*. 2012;235(1):73-81.
201. Hawcock AB, Dawkins TE, Reynolds DS. Assessment of 'active investigation' as a potential measure of female sexual incentive motivation in a preclinical non-contact rodent model: observations with apomorphine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2010;95(2):179-186.
202. Uphouse L, Hiegel C, Adams S, Murillo V, Martinez M. Prior hormonal treatment, but not sexual experience, reduces the negative effects of restraint on female sexual behavior. *Behavioural brain research*. 2014;259:35-40.
203. Kow L-M, Pfaff DW. Induction of lordosis in female rats: two modes of estrogen action and the effect of adrenalectomy. *Hormones and Behavior*. 1975;6(3):259-276.
204. Beach FA. Effects of injury to the cerebral cortex upon the display of masculine and feminine mating behavior by female rats. *Journal of comparative psychology*. 1943;36(3):169.
205. Mazaud Sv, Guigon CIJ, Lozach A, Coudouel NI, Forest MG, Coffigny H, et al. Establishment of the reproductive function and transient fertility of

- female rats lacking primordial follicle stock after fetal γ -irradiation. *Endocrinology*. 2002;143(12):4775-4787.
206. Artaş G, Pala Ş, Kuloğlu T, Atilgan R, Yavuzkir Ş, Akyol A. The effects of sclerotherapy with 5% trichloroacetic acid on the cyst diameter and ovarian tissue in the rat ovarian cyst model. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2018;38(5):686-692.
207. Mircea CN, Lujan ME, Pierson RA. Metabolic fuel and clinical implications for female reproduction. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2007;29(11):887-902.
208. Bauman D. Impact of obesity on female puberty and pubertal disorders. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2023:102400.
209. l'Allemand D, Schmidt S, Rousson V, Brabant G, Gasser T, Grüters A. Associations between body mass, leptin, IGF-I and circulating adrenal androgens in children with obesity and premature adrenarche. *European Journal of Endocrinology*. 2002;146(4):537-543.
210. Martin LJ. Implications of adiponectin in linking metabolism to testicular function. *Endocrine*. 2014;46:16-28.
211. Mathew H, Castracane VD, Mantzoros C. Adipose tissue and reproductive health. *Metabolism*. 2018;86:18-32.
212. MOENTER SM, Caraty A, KARSCH FJ. The estradiol-induced surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. *Endocrinology*. 1990; 127(3):1375-1384.
213. IJ C. The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology*. 1982;111:1737-179.
214. Marshall JC, Kelch RP. Gonadotropin-releasing hormone: role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(23):1459-1468.

215. Ajayi AF, Akhigbe RE. Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: an update. *Fertility research and practice*. 2020;6(1):1-15.
216. Auta T, Hassan A. Alteration in oestrus cycle and implantation in *Mus musculus* administered aqueous wood ash extract of *Azadirachta indica* (neem). *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 2016;5(3):188-192.
217. Petraglia F, Serour GI, Chapron C. The changing prevalence of infertility. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2013;123:S4-S8.
218. Rekwot P, Ogwu D, Oyedipe E, Sekoni V. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Animal reproduction science*. 2001;65(3-4):157-170.
219. Hurst JL. Female recognition and assessment of males through scent. *Behavioural brain research*. 2009;200(2):295-303.
220. Brennan PA, Kendrick KM. Mammalian social odours: attraction and individual recognition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2006;361(1476):2061-2078.
221. Keller M, Baum MJ, Bakker J. Olfactory control of sex-recognition and sexual behavior in mice. *Chemical Signals in Vertebrates 11*: Springer; 2008. p. 241-250.
222. Restrepo D, Arellano J, Oliva AM, Schaefer ML, Lin W. Emerging views on the distinct but related roles of the main and accessory olfactory systems in responsiveness to chemosensory signals in mice. *Hormones and behavior*. 2004;46(3):247-256.
223. Raeková E, Vanický I, Igová T. Correlation of functional alteration with lesion extent after olfactory bulbectomy in rats. *International journal of neuroscience*. 1994;79(1-2):13-20.
224. Silver WL, Mason JR, Marshall DA, Maruniak JA. Rat trigeminal, olfactory and taste responses after capsaicin desensitization. *Brain research*. 1985;333(1):45-54.

225. Le Moëne O, Stavarache M, Ogawa S, Musatov S, Ågmo A. Estrogen receptors α and β in the central amygdala and the ventromedial nucleus of the hypothalamus: Sociosexual behaviors, fear and arousal in female rats during emotionally challenging events. *Behavioural Brain Research*. 2019;367:128-142.
226. Clayton AH, Juarez EMV. Female sexual dysfunction. *Medical Clinics*. 2019;103(4):681-698.
227. Leonard A, Shill AL, Thackray A, Stensel D, Bishop NC. Fasted plasma aspirin concentrations are associated with menstrual cycle phase, oral contraceptive use and training status in healthy women. *European journal of applied physiology*. 2021;121:793-801.
228. Clark AS, Kelton MC, Guarraci FA, Clyons EQ. Hormonal status and test condition, but not sexual experience, modulate partner preference in female rats. *Hormones and Behavior*. 2004;45(5):314-323.
229. Avitsur R, Yirmiya R. The partner preference paradigm: a method to study sexual motivation and performance of female rats. *Brain Research Protocols*. 1999;3(3):320-325.
230. Henley C, Nunez A, Clemens L. Hormones of choice: the neuroendocrinology of partner preference in animals. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2011;32(2):146-154.
231. Cappelletti M, Wallen K. Increasing women's sexual desire: the comparative effectiveness of estrogens and androgens. *Hormones and behavior*. 2016;78:178-193.
232. Clayton AH. The pathophysiology of hypoactive sexual desire disorder in women. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2010;110(1):7-11.
233. Roney JR, Simmons ZL. Hormonal predictors of sexual motivation in natural menstrual cycles. *Hormones and behavior*. 2013;63(4):636-645.

234. Shirazi TN, Self H, Dawood K, Rosenfield KA, Penke L, Carré JM, et al. Hormonal predictors of women's sexual motivation. *Evolution and Human Behavior*. 2019;40(3):336-344.
235. Keskin T, Erden Y, Tekin S. Intracerebroventricular asprosin administration strongly stimulates hypothalamic-pituitary-testicular axis in rats. *Molecular and cellular endocrinology*. 2021;538:111451.
236. Fadem BH, Barfield RJ, Whalen RE. Dose-response and time-response relationships between progesterone and the display of patterns of receptive and proceptive behavior in the female rat. *Hormones and Behavior*. 1979;13(1):40-48.
237. Tsutsui K, Bentley G, Kriegsfeld L, Osugi T, Seong J, Vaudry H. Discovery and evolutionary history of gonadotrophin-inhibitory hormone and kisspeptin: new key neuropeptides controlling reproduction. *Journal of neuroendocrinology*. 2010;22(7):716-727.
238. Herbert J. Oxytocin and sexual behaviour. *BMJ (Clinical research ed)*. 1994;309(6959):891-2. Epub 1994/10/08. doi: 10.1136/bmj.309.6959.891. PubMed PMID: 7950649; PubMed Central PMCID: PMC2541174.
239. Arletti R, Benelli A, Bertolini A. Oxytocin involvement in male and female sexual behavior. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1992;652(1):180-193.
240. Caldwell J, Prange Jr A, Pedersen C. Oxytocin facilitates the sexual receptivity of estrogen-treated female rats. *Neuropeptides*. 1986;7(2):175-189.
241. Coccia ME, Rizzello F. Ovarian reserve. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008;1127(1):27-30.
242. Findlay JK, Hutt KJ, Hickey M, Anderson RA. What is the "ovarian reserve"? *Fertility and Sterility*. 2015;103(3):628-630.
243. Barbieri RL. Female infertility. *Yen and Jaffe's reproductive endocrinology: Elsevier*; 2019. p. 556-81. e7.

244. Dunson DB, Baird DD, Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstetrics & Gynecology*. 2004;103(1):51-56.
245. Abir R, Orvieto R, Dicker D, Zukerman Z, Barnett M, Fisch B. Preliminary studies on apoptosis in human fetal ovaries. *Fertility and sterility*. 2002;78(2):259-264.
246. Benian A, Guralp O, Uzun DD, Okyar A, Sahmay S. The effect of repeated administration of methotrexate (MTX) on rat ovary: measurement of serum antimullerian hormone (AMH) levels. *Gynecological Endocrinology*. 2013;29(3):226-229.
247. Visser JA, Schipper I, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: an ovarian reserve marker in primary ovarian insufficiency. *Nature Reviews Endocrinology*. 2012;8(6):331-341.
248. Kerr JB, Myers M, Anderson RA. The dynamics of the primordial follicle reserve. *Reproduction*. 2013;146(6):R205-R15.
249. Oktay K, Karlikaya G, Akman O, Ojakian GK, Oktay M. Interaction of extracellular matrix and activin-A in the initiation of follicle growth in the mouse ovary. *Biology of reproduction*. 2000;63(2):457-461.
250. Eppig JJ. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*. 2001;122(6):829-838.
251. Skinner MK. Regulation of primordial follicle assembly and development. *Human reproduction update*. 2005;11(5):461-471.
252. Oktay K, Briggs D, Gosden RG. Ontogeny of follicle-stimulating hormone receptor gene expression in isolated human ovarian follicles. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997;82(11):3748-3751.
253. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Ingraham HA, Nachtigal MW, et al. Anti-Mullerian hormone inhibits initiation of primordial follicle growth in the mouse ovary. *Endocrinology*. 2002;143(3):1076-1084.
254. Durlinger AL, Kramer P, Karels B, de Jong FH, Uilenbroek JTJ, Grootegoed JA, et al. Control of primordial follicle recruitment by anti-

- Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*. 1999;140(12):5789-5796.
255. Tanaka Y, Nakada K, Moriyoshi M, Sawamukai Y. Appearance and number of follicles and change in the concentration of serum FSH in female bovine fetuses. *REPRODUCTION-CAMBRIDGE-*. 2001;121(5):777-782.
256. Macklon NS, Fauser BC. Follicle-stimulating hormone and advanced follicle development in the human. *Archives of medical research*. 2001;32(6):595-600.
257. Eshkol A, Lunenfeld B. Purification And Separation Of Follicle Stimulating Hormone (Fsh) And Luteinizing Hormone (Lh) From Human Menopausal Gonadotrophin (HMG) III. Effects of a biologically apparently pure FSH preparation on ovaries and uteri of intact, immature mice. *European Journal of Endocrinology*. 1967;54(1):91-95.
258. McNatty KP, Hillier SG, van den Boogaard AM, Trimpos-Kemper TC, Reichert JR LE, van Hall EV. Follicular development during the luteal phase of the human menstrual cycle. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1983;56(5):1022-1031.
259. Stouffer R. Progesterone as a mediator of gonadotrophin action in the corpus luteum: beyond steroidogenesis. *Human reproduction update*. 2003;9(2):99-117.
260. Ulker N, Yardimci A, Tektemur NK, Bulmus O, Kaya SO, Bulmus FG, et al. Irisin may have a role in pubertal development and regulation of reproductive function in rats. *Reproduction*. 2020;160(2):281-292.
261. Makanji Y, Harrison CA, Robertson DM. Feedback regulation by inhibins A and B of the pituitary secretion of follicle-stimulating hormone. *Vitamins & Hormones*. 2011;85:299-321.
262. Hall JE, Weltand CK, Cramer DW. Inhibin A and inhibin B reflect ovarian function in assisted reproduction but are less useful at predicting outcome. *Human Reproduction*. 1999;14(2):409-415.

263. Maurya S, Krishna A, Lal B, Singh A. Asprosin promotes steroidogenesis and spermatogenesis with improved glucose metabolism in adult mice testis. *Andrologia*. 2022;54(11):e14579.
264. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2004;89(6):2548-2556.
265. Dupont J, Reverchon M, Bertoldo MJ, Froment P. Nutritional signals and reproduction. *Molecular and cellular endocrinology*. 2014;382(1):527-537.