

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

PUBERTE BOZUKLUKLARINDA PLAZMA KİSSPEPTİN VE
GHRELİN DÜZEYLERİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. Erdal KURNAZ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Yaşar ŞEN

ELAZIĞ
2010

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr.İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafınızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Yaşar ŞEN

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Prof. Dr. A. Denizmen AYGÜN

Doç. Dr. Saadet AKARSU

Doç. Dr. Yaşar ŞEN

Doç. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

TEŞEKKÜR

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında asistanlığım süresince tecrübe ve fikirlerinden yararlandığım, yetişmemde emeği olan, eğitimime katkıları bulunan başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdal YILMAZ'a ve şahsında diğer öğretim üyelerine, tezimin her aşamasında desteğini ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Yaşar Şen'e, tezimin laboratuvar çalışmaları aşamasında emekleri olan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Süleyman Aydın'a, beraber çalıştığım asistan, hemşire ve hastane personeline, hayatım boyunca bana destek veren, sevginin, dürüstlüğün, çalışmanın, hoşgörü ve paylaşmanın değerini öğreten aileme teşekkür ederim

FÜBAP Proje No:1849

FÜBAP tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Erken ve gecikmiş puberte çocukluk çağında sık görülmektedir. Buna rağmen bu sorunların temel sebepleri halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Kisspeptin ve ghrelinin normal puberte üzerine hipotalamus üzerinden etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı puberte varyantı (prematür telarş, prematür adrenarş) ve gecikmiş puberte olgularında, kisspeptin ve ghrelinin rolünün olup olmadığını belirlemektir.

Çalışmaya 1-18 yaş arası çocuklar seçildi. Olgular prematür telarş (n=40), prematür adrenarş (n=23, kız/erkek=20/3) ve gecikmiş puberte (n=19, kız/erkek=5/14) gruplarına ayrıldı. Her grubun kendi yaşına ve cinsiyetine uygun kontrol grupları oluşturuldu. Sabah aç karnına alınan kan örneklerinden kisspeptin ve ghrelin düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü.

Prematür telarş grubunda kontrolleriyle kıyaslandığında olguların plazma kisspeptin düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin yüksekti (sırasıyla 165.47 ± 15.45 pmol/L, 96.82 ± 12.33 pmol/L, $p=0.005$). Prematür adrenarş grubunda ise kisspeptin düzeyleri kontrol grubu ile bir farklılık göstermedi (sırasıyla 121.36 ± 17.99 pmol/L, 95.52 ± 11.54 pmol /L, $p=0.249$). Prematür telarş ve prematür adrenarş gruplarında ghrelin düzeyleri kontrolleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunamadı. Gecikmiş puberte olgularının kisspeptin düzeyi kontrollerine göre belirgin bir şekilde düşük iken (sırasıyla 62.80 ± 30.53 pmol/L, 125.72 ± 46.58 pmol/L, $p<0.001$), ghrelin düzeyleri açısından bir fark yoktu. Hiçbir grupta kisspeptinle ghrelin arasında korelasyon tespit edilmedi.

Sonuçlarımız kisspeptinin prematür telarş üzerine olumlu, gecikmiş puberte üzerine olumsuz bir rolü bulunduğunu, ghrelinin ise puberte bozuklukları üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Prematür telarş, prematür adrenarş, gecikmiş puberte, ghrelin, kisspeptin

ABSTRACT

PLASMA KISSPEPTIN and GHRELIN LEVELS IN PUBERTY DISTURBANCES

Premature and delayed puberty can be seen mostly in childhood age. Despite of this, exact mechanism of this disturbances can't be clarified. We know that kisspeptin and ghrelin has effects on normal puberty throughout hypothalamus. The purpose of this study is, if there is a role of kisspeptin and ghrelin in puberty variant (premature telarche, premature adrenarche) and delayed puberty.

The children between the ages of 1-18 are to be elected in our study. Cases are separated as premature telarche (n=40), premature adrenarche (n=23, F/M=20/3) and delayed puberty (n=19, F/M=5/14). We compose control groups in all cases due to their age and sex. Kisspeptin and ghrelin levels are measured with ELISA method which the blood samples are taken while hungry.

In our cases plasma kisspeptin levels are markedly increased as we compare with control group in premature telarche (respectively 165.47 ± 15.45 pmol/L, 96.82 ± 12.33 pmol/L, $p=0.005$). In premature adrenarche group kisspeptin levels has not a distinct difference between control groups (respectively 121.36 ± 17.99 pmol/L, 95.52 ± 11.54 pmol /L, $p=0.249$). We could not find a significant difference in the ghrelin levels as compared with the control groups in premature telarche and premature adrenarche. However kisspeptin levels compared with control groups in delayed puberty are significantly low (respectively 62.80 ± 30.53 pmol/L, 125.72 ± 46.58 pmol/L, $p < 0.001$), there was no difference between ghrelin levels. There was no correlation between kisspeptin and ghrelin in any group.

Our results show that kisspeptin has a positive effect on premature telarche, but has a negative effect on delayed puberty. On the other hand ghrelin has no effect on puberty disturbances.

Key words: Premature telarche, premature adrenarche, delayed puberty, ghrelin, kisspeptin

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	i
ONAY	ii
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Puberte Bozuklukları	3
1.1.1. Gerçek Erken Puberte	3
1.1.2. Yalancı Erken Puberte	4
1.1.3. Prematür Telarş	5
1.1.4. Prematür Adrenarş	6
1.1.5. Prematür Menarş	6
1.1.6. Gecikmiş Puberte	6
1.2. Hipotalamus-Hipofiz-Gonad Eksenı	7
1.3. Kisspeptin ve GPR54	8
1.3.1. Kisspeptin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı	8
1.3.2. Kisspeptinin Doku Dağılımı	8
1.3.3. Dolaşımdaki Kisspeptin Gen Ürünü Peptidler	8
1.3.4. Kisspeptin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması	9
1.3.5. Kisspeptinin Hipotalamik Düzenlenmesi	9

1.3.6. Çevresel ve Metabolik Faktörlerin Kisspeptinle İlişkisi	10
1.3.7. Kisspeptinin Puberte Üzerine Etkisi	11
1.4. Ghrelin	12
1.4.1. Ghrelin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı	12
1.4.2. Ghrelin ve Türevlerinin Doku Dağılımı	13
1.4.3. Dolaşımdaki Ghrelin Gen Ürünü Peptidler	13
1.4.4. Ghrelin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması	13
1.4.4.1 Ghrelin Reseptörleri ve Etki Mekanizması	13
1.4.4.2. Ghrelinin Büyüme Hormonu Salınımına Etkisi	14
1.4.5. Ghrelin ve Hastalıklar	14
1.4.6. Ghrelinin Puberte Üzerindeki Etkisi	14
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	16
2.1. Çalışma Grubu	16
2.2. Kan Örnekleri	20
2.3. İstatistiksel Analiz	21
3. BULGULAR	22
4. TARTIŞMA	36
5. KAYNAKLAR	48
6. EKLER	
EK-A: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Hasta grubu için)	
EB-B: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (Kontrol grubu için)	
7. ÖZGEÇMİŞ	70

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gerçek erken puberte nedenleri	3
Tablo 2. Yalancı erken puberte nedenleri	4
Tablo 3. Hastalıklara göre ghrelin düzeyi	14
Tablo 4. Erkeklerde Tanner genital evreleri	16
Tablo 5. Erkeklerde pubik kıllanmanın Tanner evreleri	17
Tablo 6. Meme gelişimi Tanner evreleri	17
Tablo 7. Kızlarda pubik kıllanmanın Tanner evreleri	17
Tablo 8. Prematür telarş ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri	22
Tablo 9. Prematür adrenarş ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri.	26
Tablo 10. Gecikmiş puberte ve kontrollerinde genital evrelendirme	30
Tablo 11. Gecikmiş puberte ve kontrol grubunun testis volümleri	30
Tablo 12. Gecikmiş puberte ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri	31
Tablo 13. Gerçek erken puberte hastalarının antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri	35
Tablo 14. Prematür menarş olgularının antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri	35

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Ghrelin ve leptinin hipotalamus-hipofiz-gonad aksı üzerine etkisi	2
Şekil 2.	145 amino asit içeren öncül kisspeptin proteinlerinin kesimi sonucu aktif kisspeptinlerin oluşumu	8
Şekil 3.	Kisspeptinin etki mekanizması	9
Şekil 4.	Gonadal steroidler tarafından arkuat ve anteroventralperiventriküler nükleusdaki KiSS-1 nöronlarının regülasyonu	10
Şekil 5.	Ghrelininin 28 aminoasitlik moleküler yapısı	12
Şekil 6.	Prematür telarş ve kontrol grubu kisspeptin düzeyleri	23
Şekil 7.	Prematür telarş ve kontrol grubu açil ghrelin düzeyleri	23
Şekil 8.	Prematür telarş ve kontrol grubu desaçil ghrelin düzeyleri	24
Şekil 9.	Prematür telarş kisspeptin ve açil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	24
Şekil 10.	Prematür telarş kisspeptin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	25
Şekil 11.	Prematür telarş açilghrelin ve desaçilghrelin düzeylerinin korelasyonu	25
Şekil 12.	Prematür adrenarş ve kontrol grubu kisspeptin düzeyleri	27
Şekil 13.	Prematür adrenarş ve kontrol grubu açil ghrelin düzeyleri	27
Şekil 14.	Prematür adrenarş ve kontrol grubu desaçilghrelin düzeyleri	28
Şekil 15.	Prematür adrenarş kisspeptin ve açil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	28
Şekil 16.	Prematür adrenarş kisspeptin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	29
Şekil 17.	Prematür adrenarş açil ghrelin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	29

Şekil 18. Gecikmiş puberte ve kontrol grubu kisspeptin düzeyleri	32
Şekil 19. Gecikmiş puberte ve kontrol grubu açıl ghrelin düzeyleri	32
Şekil 20. Gecikmiş puberte ve kontrol grubu desaçil ghrelin düzeyleri	33
Şekil 21. Gecikmiş puberte kisspeptin ve açıl ghrelin düzeylerinin korelasyonu	33
Şekil 22. Gecikmiş puberte kisspeptin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	34
Şekil 23. Gecikmiş puberte açıl ghrelin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu	34

KISALTMA LİSTESİ

aGAH	: Açile ghrelin
Arc	: Arkuat nükleus
AVPV	: Anteroventralperiventriküler nükleus
BH	: Büyüme hormonu
BHSH	: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon
BHSR	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
DM	: Diyabetes mellitus
E₂	: Estradiol
FSH	: Follicle stimulating hormone (Folikül uyarıcı hormon)
G1	: Genital evre 1
G2	: Genital evre 2
G3	: Genital evre 3
G4	: Genital evre 4
G5	: Genital evre 5
GAH	: Ghrelin Appetite Hormone (Ghrelin apetit hormon)
dGAH	: Desaçile ghrelin
GEP	: Gerçek erken puberte
GnRH	: Gonadotropin-releasing hormon (Gonadotropin salgılatıcı hormon)
GP	: Gecikmiş puberte
GPR54	: G proteini ile birleşen Reseptör 54
HHG	: Hipotalamus-Hipofiz-Gonad
IGF-1	: İnsülin like growth factor-1 (İnsülin benzeri büyüme faktörü -1)
İHH	: İdiopatik hipogonadotropik hipogonadizm
İSV	: İntraserebroventriküler
KAH	: Konjenital adrenal hiperplazi
LH	: Luteinizing hormone (Lüteinize hormon)
LHRH	: Luteinizing hormone releasing hormone (Lüteinize hormon salgılatıcı hormon)
M1	: Meme evre 1
M2	: Meme evre 2
M3	: Meme evre 3

M4	: Meme evre 4
M5	: Meme evre 5
nİHH	: Normoosmik İdiopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm
NKB	: Nörokinin B
PeN	: Periventriküler nükleus
PK1	: Pubik kıllanma evre 1
PK2	: Pubik kıllanma evre 2
PK3	: Pubik kıllanma evre 3
PK4	: Pubik kıllanma evre 4
PK5	: Pubik kıllanma evre 5
PA	: Prematür adrenarş
PM	: Prematür menarş
PT	: Prematür telarş
SD	: Standart Deviasyon
SSS	: Santral sinir sistemi
T	: Testesteron
VKİ	: Vücut kitle indeksi
YBG	: Yapısal büyüme geriliği
YEP	: Yalancı Erken Puberte

1. GİRİŞ

Puberte; çocukluktan yetişkinliğe geçiş dönemidir (1). Bu dönemde genital organlarda büyüme ve sekonder cinsiyet özelliklerinde belirginleşme ortaya çıkmakta, gonadal hormonların salgılanmasıyla gametogenez ve üreme fonksiyonu kazanılmaktadır (2, 3).

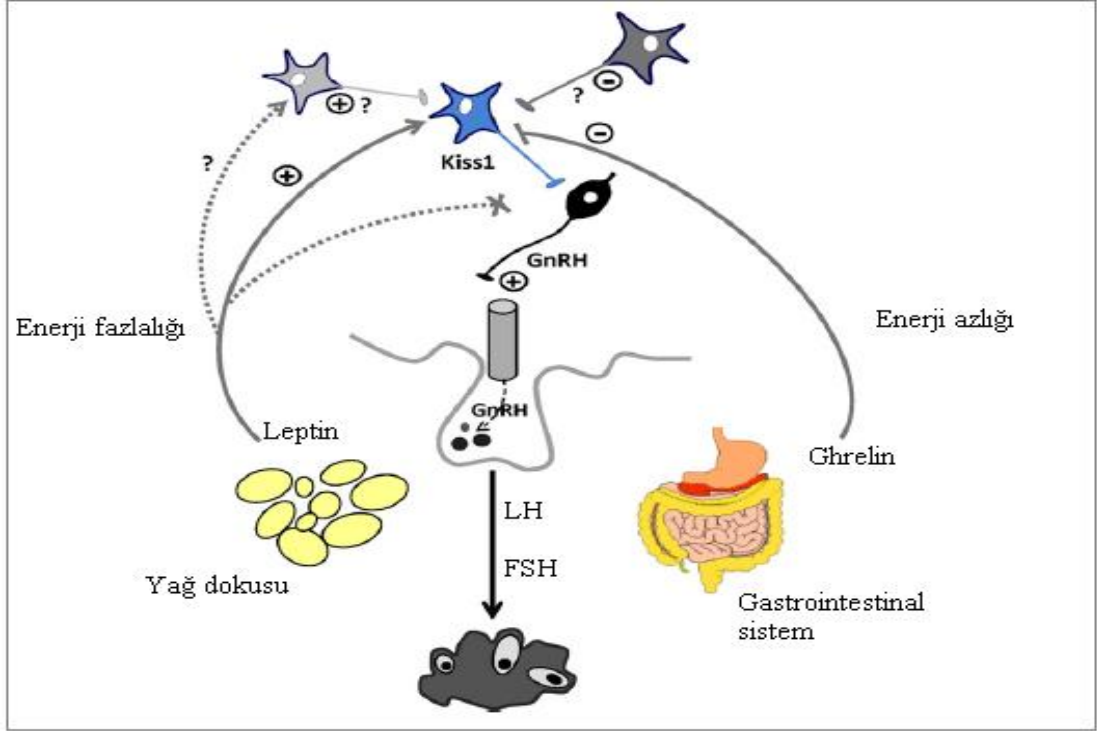
Puberte başlangıcı hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (gonadotropin releasing hormone: GnRH) salınımının ortaya çıkışı ile kendini göstermektedir. Gonadotropin salgılatıcı hormon ön hipofizdeki gonadotropin uyararak lüteinizan hormon (Luteinizing hormone: LH) ve folikül uyarıcı hormon (follicle stimulating hormone: FSH) salgılanmasını sağlar. Lüteinizan hormon ve FSH ise gonadlarda kendilerine özgü reseptörlere bağlanarak gonadların olgunlaşmasını ve cins steroidlerinden östradiol (E2) ve testosteron (T) salınımını uyarmakta, cins steroidleri de cinsiyete özgü sekonder karakterlerin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (4).

Hipotalamustan GnRH salınımı santral sinir sistemi (SSS)'ndeki nörotransmitterlerin, kisspeptinin, genetik faktörlerin, adrenal ve tiroid hormonlarının, büyüme hormonu (BH)'nun, insulin benzeri büyüme faktörü-1 (insulin like growth factor-1: IGF-I)'in, IGF bağlayıcı proteinin, beslenme ve insulinin, Ghrelin appetit hormon (Ghrelin Appetite Hormone: GAH) ve leptin gibi nutrisyonel durumla ilgili hormonların kontrolü altındadır (4, 5). Yağ dokusundan salgılanan leptinin pubertenin başlangıcında rol oynayan nörohormonal mekanizmaları tetiklemek suretiyle vücuttaki enerji depolarının durumu yansıttığı gösterilmiştir (Şekil 1) (5).

Benzer şekilde GAH'ın puberte üzerine iştahı ve enerji alımını düzenleyerek kisspeptin 1 nöronları üzerinden etkili olduğu tahmin edilmektedir (5).

Hipotalamus-hipofizer-gonad (HHG) ekseninin düzenli fonksiyon görebilmesi için öncelikli olarak nöroanatomik gelişimin sağlıklı olması gerekmektedir. Bu eksenin gelişimi ve fonksiyonları üzerine bir takım genlerin etkili olduğu gösterilmiştir. Bu genlerden yakın zamanda tespit edilenleri metastin süpresör ve G protein ile birleşen reseptör 54 (GPR54) genleridir (6, 7). Bu genlerin ürünü kisspeptindir.

Kisspeptin ilk kez Lee ve ark. (8, 9) tarafından malign melanomlu hastalarda metastaz süpresör geni KiSS-1'in ürünü olarak gösterilmiştir. Bu peptidin hipotalamusta GnRH nöronları üzerindeki GPR54 reseptörü aracılığıyla GnRH'nın salgılanmasını uyardığı, kisspeptin antikorunun ise dişi sıçanların beynine infüze edildiğinde östrus siklusunu tamamen durduğu ortaya konulmuştur (10).



Şekil 1. Ghrelin ve leptinin hipotalamus-hipofiz-gonad aksı üzerine etkisi

G proteini ile birleşen reseptör 54'de fonksiyon kaybına neden olan mutasyon sebebiyle ortaya çıkan idiopatik hipogonadotropik hipogonadizm (İHH) olgularında ve GPR54'den yoksun farelerde pubertenin gelişmediği, üreme organlarının immatür kaldığı, gonadotropin ve gonadal hormonlarının düşük seviyede olduğu gösterilmiştir (7).

Büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün (BHSR) doğal ligantı olan GAH ilk olarak 1999 yılında Kojima ve ark. (11) tarafından farelerin midesinde keşfedilmiştir. Büyüme hormonu üzerine sadece büyüme hormonu salgılatıcı hormonun (BHSH) etki etmediği GAH'ında bu hormonun seviyesini artırdığı gösterilmiştir (12). Ghrelinin bu etkisinin keşfinden sonra beslenme ve enerji alımının düzenlenmesi üzerinde de rol oynadığı tespit edilmiştir (5). Ghrelin düzeyleri beslenmenin büyüme

üzerine etkisinin daha fazla olduğu ilk 2 yıl içerisinde yüksek seyretmekte, bu dönemden sonra yaşla birlikte düzeyleri azalmaktadır. Puberte döneminde ise ilk 2 yıl kadar olmasa da GAH düzeyleri yükselmekte puberteden sonra ise erişkin düzeyine ulaşmaktadır (13-15). Ghrelinin bu özelliklerine 2008 yılında bir yenisi eklenmiştir (16, 17). Bu özellik; hem deney hayvanlarında hem de insanlarda gonadotropin salınımını inhibe etmesidir (Şekil 1) (18).

Seksüel olgunlaşma ve büyümenin tamamlandığı pubertal dönemde bazı pubertal bozuklukların etyolojisi tam olarak aydınlatılmadığından, şimdilik idiopatik olarak kabul edilmektedir. Fakat bunların temelinde kisspeptin, leptin, GAH gibi nöroendokrin moleküler patolojilerin yer alabileceği düşünülmekte ve bu yönde çalışmalar yapılmaktadır (5, 19). Çalışmalar özellikle GnRH nöronları üzerinden etkili olduğu düşünülen kisspeptin/GPR54, leptin ve GAH üzerine yoğunlaşmıştır (5, 7, 20).

1.1. Puberte Bozuklukları

Erken puberte, sekonder seksüel karakterlerin normal populasyonda görüldüğü yaş ortalamasından 2,5 standart deviasyon (SD) daha öne kaymasıdır. Bu sınır kızlar için 8, erkekler için 9 yaş olarak kabul edilmektedir (21).

1.1.1. Gerçek Erken Puberte

Gerçek erken puberte (GEP), HHG ekseninin fonksiyonel olarak ya da organik bir patoloji sonucu erken olgunlaşmasıdır (Tablo 1) (4).

Tablo 1. Gerçek erken puberte nedenleri

1. İdiopatik
○ Ailevi
○ Ailevi olmayan
2. Santral sinir sistemi tümörleri
○ Astrositoma, Optik glioma, Kraniofarenjioma, Ependimoma
3. Santral sinir sisteminin diğer lezyonları
○ Abse, ensefalit
○ Travma
○ Hidrosefali
○ Hipotalamik hamartom
○ Araknoid kist
○ Kranial ışınlama
○ Kemoterapi
4. Kombine (sekonder) erken puberte
○ Yalancı başlangıçlı erken puberteye gerçek erken pubertenin eklenmesi

Gonadotropin salgılatıcı hormon nöronları üzerindeki santral baskılayıcı sistemlerin etkinliğini yitirmesi ve uyarıcı sistemlerin ön plana çıkması sonucu ortaya çıkmaktadır. Pubertal bulgular daima izoseksüeldir ve aynı cinse özgü sekonder cins karakterleri belirginleşmektedir (22).

Organik nedenlerin erkeklerde daha fazla olduğu dikkati çekmektedir. Bu oran kızlarda %5-10 iken erkeklerde %40-80 civarında olabilmektedir (4). Kızlarda görülen erken pubertenin % 90'ı idiopattiktir, herhangi bir organik sebep gösterilememektedir (23, 24).

1.1.2. Yalancı Erken Puberte

Hipotalamus-hipofiz-gonad aksı aktive olmadan ortaya çıkan puberteye yalancı erken puberte (YEP) denilmektedir (Tablo 2) (25).

Tablo 2. Yalancı erken puberte nedenleri

KIZLARDA	
İzoseksüel	Heteroseksüel
1. Over follikül kistleri	1. Konjenital adrenal hiperplazi
2. Östrojen salgılayan over tümörler	2. Virilizan adrenal tümör
3. Östrojen salgılayan surrenal tümör	3. Arrhenoblastom
4. Mc Cune- Albright Sendromu	4. Kortizol direnci
5. Aromataz fazlalığı	5. Aromatoz eksikliği
6. Peutz-Jeghers sendromu	6. Peutz-Jeghers sendromu
7. İatrojenik	7. İatrojenik

ERKEKLERDE	
İzoseksüel	Heteroseksüel
1. Konjenital adrenal hiperplazi	1. Östrojen salgılayan testis tümörleri
2. Ailevi testotoksikoz	2. Östrojen salgılayan adrenal tümörler
3. Mc Cune- Albright sendromu	3. Aromatoz fazlalığı
4. Virilizan testis yada adrenal tümörler	4. İatrojenik
5. Kortizol direnci	
6. İatrojenik	

Bazal hormon seviyelerine bakıldığında seks hormonlarının yüksek, gonadotropinlerin ise düşük olduğu görülür. Bunlarda GnRH uyarısı sonrası gonadotropin seviyelerinde artış görülmez. Her iki cinste de somatik gelişim de

hızlanma ve kemik yaşında belirgin ilerleme dikkat çekmektedir. Salgılanan hormona göre pubertal bulgular izoseksüel ya da heteroseksüel olabilir (Tablo 2). Erken gelişen sekonder cinsel özellikler genetik cinse uygunsa izoseksüel erken puberte, uygun değilse heteroseksüel erken puberte olarak değerlendirilir. Heteroseksüel erken pubertede kızlarda virilizan, erkeklerde feminizan bulgular vardır. Kliteromegali, akne gelişimi, ses kalınlaşması, androjen duyarlı bölgelerde kıllanma heteroseksüel erken pubertenin kızlardaki bulgularıdır. Erkeklerde ise heteroseksüel yalancı erken pubertenin en önemli bulgusu jinekomastidir (4).

1.1.3. Prematür Telarş

Prematür telarş (PT), ırklara ve bazı ülkelere göre farklı rakamlar bildirilmesine rağmen kızlarda 8 yaşından önce izole meme gelişmesidir (26-28). Seksüel kıllanma, ileri kemik yaşı, erişkin vücut kokusu bulunmaması izole meme büyümesinin santral erken puberteden ayırt edici özellikleridir. Ancak Prematür telarş bazen erken pubertenin ilk bulgusu olabilmektedir (29). Anneden geçen hormonların etkisi ile yenidoğan döneminde her iki cinsiyette fizyolojik meme büyümesi görülmekte ve bu durum ilk 2 yaşta kendiliğinden gerilemektedir (30).

G proteini ile birleşen reseptör 54'ü aktive edici mutasyon ile beraber prematür doğum, genetik sendromlar, LH biyoaktivitesi, östrojene aşırı duyarlılık, ilaçlar, ekzojen östrojenler, kozmetik ve saç bakım ürünleri, over kisti, seks hormonu bağlayıcı globulin yüksekliği, obezite, tümörler, HHG aksının parsiyel aktivasyonu PT'a neden olabilmektedir.

Prematür telarşlı olguların yarısında meme büyümesi tek taraflı olabilmektedir. Bilateral meme dokusu gelişen olgularda ise meme asimetrisi gelişebilir. Meme büyüklüğü genellikle Tanner Evre 2'yi nadiren Evre 3'ü geçebilmektedir. İzole telarş puberte başlama yaşını, menstrüasyonu, final boyu ve fertilitiyi etkilememektedir.

Prematür telarş yaklaşık olarak %14 oranında GEP'e geçiş gösterebilmektedir (31, 32). Eğer santral başlangıçlı puberte gelişmişse erken tedavi ile final boya ulaşılabilir. Kullanılan laboratuvar testleri ve fizik muayene ile GEP ve PT ayrımı yapılamayabilir. Bu yüzden farklı tetkiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Kisspeptinin bu yöntemlerden birisi olup olmayacağı hususunda çalışmalar yapılmaktadır (20).

1.1.4. Prematür Adrenarş

Prematür adrenarş (PA) kızlarda 8, erkeklerde 9 yaşından önce pubertenin diğer bulguları olmadan pubik ve/veya aksiller kıllanmanın olmasıdır. Tabloya öteki pubertal bulgular ve virilizasyon gösteren özellikler eklenmemekle beraber somatik gelişimde geçici bir hızlanma dikkati çekmektedir. Büyüme hızında ve kemik yaşında hafif bir artış görülmekte ancak normal pubertal boya ulaşılmaktadır (33, 34).

Prematür adrenarşın hiperandrojenizme yol açan diğer nedenlerden ayırıcı tanısı yapılmalı, hiperandrojenik bulguların (hirsutizm, akne, ses kalınlaşması, kliteromegali) olup olmadığı değerlendirilmelidir. Artmış androjen kaynağı adrenal ya da over kaynaklı olabildiği gibi her ikisine ait bozukluklar birliktelik gösterebilir. Over ve sürrenalde androjen salgılayan tümörler, non-klasik KAH, 21-hidroksilaz ve 11-hidroksilaz enzim eksikliğinin heterozigot taşıyıcıları, kortizol rezistans sendromları ayırıcı tanıda dikkate alınmalıdır (22, 33).

1.1.5. Prematür Menarş

Prematür menarş (PM) prepubertal kızlarda diğer cinsel özellikler gelişmeden ortaya çıkan vajinal kanamalardır. Çocuklarda idiyopatik PM tanısını koymadan önce bu duruma neden olabilecek vulvo-vajinit, üretral prolapsus, vajinal yabancı cisimler, vajinanın benign ve malign tümörleri ekarte edilmelidir. Kanama düzeni ve diğer pubertal bulguların tabloya eklenip eklenmediği yakından izlenmelidir. Etyopatogenezi aydınlatılamayan bu durumun HHG aksı ve çevresel dokuların arasındaki uyumsuzluktan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (21).

1.1.6. Gecikmiş Puberte

Gecikmiş puberte (GP) kızlarda 13.5, erkeklerde 14 yaşına kadar sekonder seksüel karakterlerin ortaya çıkmaması olarak tanımlanır. Gecikmiş pubertenin en sık nedeni yapısal büyüme geriliğidir (YBG). Yapısal büyüme geriliği ve GP polijenik karakterli olup erkeklerde daha sık görülmektedir (35). Puberte gecikmesi kızlarda genellikle organik kökenlidir (36).

Yapısal büyüme geriliği ve GP spontan düzelen geçici bir durumdur. Genellikle aile bireylerinde benzer ailesel öykü bulunmaktadır. Bu olguların iki yaş sonrasında büyüme hızları azalmakta, puberte ve dolayısıyla pubertal büyüme hamlesinin de gecikmesiyle boyları 3 persantilin altına inmektedir. Olguların kemik

yaşı takvim yaşından geri (genellikle -2 SD sınırları içinde) ve boy yaşı ile uyumludur. Diğer tüm sistem incelemeleri normaldir (37).

Yapısal büyüme geriliği ve GP'ye neyin sebep olduğu tam olarak ortaya konamamıştır. En çok üzerinde durulan konu parsiyel yada geçici BH eksikliğidir (38-40). Bu duruma hipofiz bezinin matürasyonunun geri kaldığı, geçici fonksiyonel hipopituitarizmin neden olabileceği ileri sürülmüştür (41). Büyüme hormonu uyarı testlerine normal yanıt alınan YBG'de gerçek bir BH'i eksikliği yoktur (42-44).

Yapısal büyüme geriliğinde görülen büyüme eğrisi, gelişmekte olan ülkelerde malnütrisyonu izleyen beslenme rehabilitasyonundan sonra da karşımıza çıkmaktadır (45). Beslenmenin puberte başlamasındaki rolü yapısal gecikmenin nütrisyonel nedenlere bağlı olabileceğini göstermektedir (46).

Gecikmiş puberteye neden olan YBG ve İHH birbirinden ayırt edilmesi zordur. Bu ayrımı yapmak için birçok test önerilmişse de hiç birisi kesin ayırıcı değildir (47). Son çalışmalarda kisspeptin reseptörünün aktive edici mutasyonunun erken başlangıçlı puberteye, inaktive edici mutasyonlarının gecikmiş puberteye veya İHH'ya neden olabildiği gösterilmiştir. Üzerinde durulan diğer bir mekanizmada pubertede kilo ve iştah azlığına neden olan yetersiz GAH salınımının bu duruma neden olduğu ileri sürülmektedir (48).

1.2. Hipotalamus-Hipofiz-Gonad Ekseni

Puberte dönemi hipotalamustan salgılanan GnRH hormonu ile tetiklenmektedir (49). Gonadotropin salgılatıcı hormonun ritmik sinyaline yanıt olarak LH ve FSH salgılanmakta, buna bağlı olarak matür gamet üretimi ve gonadal steroid sekresyonu gerçekleşmektedir (50).

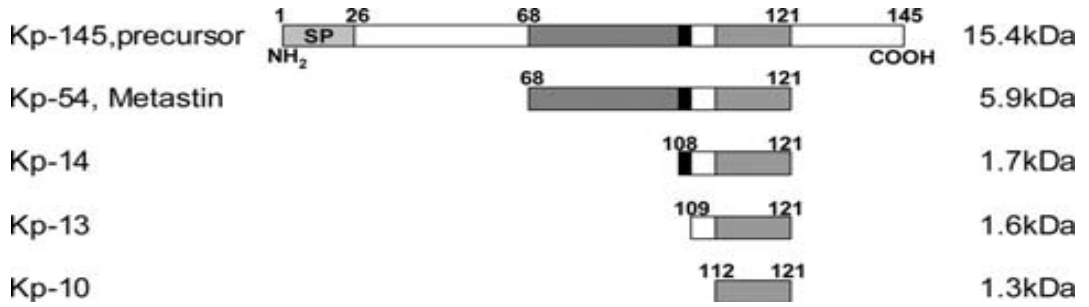
Hipotalamus-hipofiz-gonad ekseni genetik ve çevresel faktörlerle denetlenmektedir. Şimdiye kadar ergenlik problemleriyle ilgili en az 20 tek gen mutasyonu tanımlanmıştır (51). Olfaktor bulbusun gelişimi, nöroglial ağda transkripsiyon genleri, GnRH nöronlarının göçü ile ilgili genler (KiSS1/GPR54 sinyal sistemi), pubertal sistemin kuruluşu, etkinleşmesi ve tüm yaşam boyunca sürecek olan fonksiyonları açısından önem taşımaktadır (51). Pubertal aktivasyon transsinaptik iletimdeki değişimleri ve uyarıcı aminositleri içeren glia-nöron sinyal yolundaki aktivasyonu gerektirmektedir (52).

1.3. Kisspeptin ve GPR54

Kiss sözcüğündeki ‘Ki’ öneki keşfedildiği bölgedeki Hershey yöresinin meşhur çikolasından esinlenmekte, ‘ss’ sözcüğü ise süpresör diziyi ifade (suppressor sequence) etmektedir. KiSS-1 geninin ürünleri meme kanseri ve melanoma metastazını baskıladığı için KiSS-1 geninin 54 amino asitlik ürününe “metastin” (Kisspeptin-54) ismi verilmiştir (53). Daha sonraları kisspeptin-54’ün daha kısa fragmanlarının da olduğu saptanmış ve bunların hepsine birden “Kisspeptinler” denilmiştir. Bu ürünlerin hepsi GPR54 reseptörüne bağlanarak aktivite göstermektedir (54).

1.3.1. Kisspeptin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı

Kisspeptinler KiSS-1 geni (1q32) tarafından kodlanan bir nöropeptid ailesidir (Şekil 2) (7). Bu genin ürünü olan öncül kisspeptin, 145 amino asit içeren KiSS-1 proteindir. İlk 19 amino asitlik kısım sinyal diziyi oluşturmaktadır. Protein 57. ve 67. pozisyonda birer kesim noktası içermektedir (9, 55-59).



Şekil 2. 145 amino asit içeren öncül kisspeptin proteinlerinin kesimi sonucu aktif kisspeptinlerin oluşumu

1.3.2. Kisspeptinin Doku Dağılımı

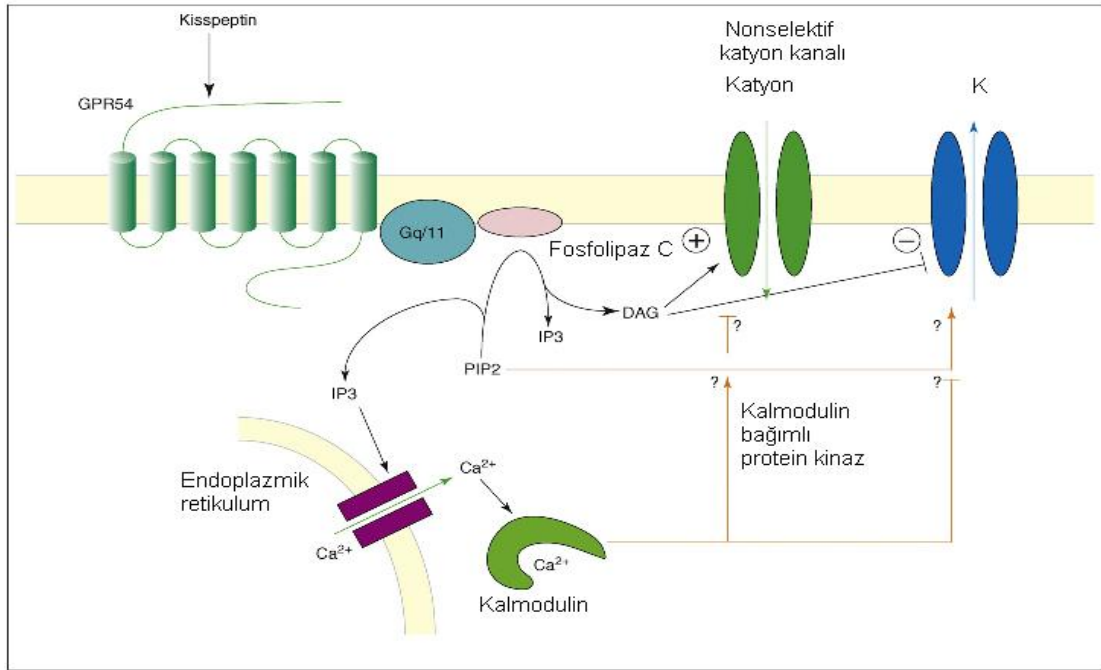
Kisspeptinin SSS ile birlikte testis, ovaryum, pankreas, bağırsaklar ve en yoğun olarak da plasentada sentezlendiği gösterilmiştir (60-62). Ovaryumlarda lokal olarak sentezlenen kisspeptinin ovulasyonda rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (63).

1.3.3. Dolaşımdaki Kisspeptin Gen Ürünü Peptidler

Kisspeptinin dolaşımdaki ve dokulardaki major formu 54 amino asit içeren metastindir. Bunun yanısıra 10, 13 ve 14 amino asit içeren daha kısa doğal formları da (Kisspeptin-10, Kisspeptin-13 ve Kisspeptin-14) bulunmaktadır (7).

1.3.4. Kisspeptin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması

Kisspeptinin GPR54 reseptörüne bağlanması sonucunda fosfolipaz-C aktive olmakta ve ardından fosfotidilinozitol bifosfattan, inozitol trisfosfat ve diaçilgliserol oluşmakta, Ca^{+2} konsantrasyonu artmaktadır. Oluşan bu mekanizma sonucunda potasyum kanalı kapanırken, katyon kanalları açılarak GnRH nöronları depolarize olmaktadır. Bunun sonucunda GnRH nöronlarından hormon salınımı gerçekleşmektedir (Şekil 3) (64). Kisspeptin aynı zamanda mitojen aktiveli protein ve ekstraselüler sinyal düzenleyici protein yollarını uyararak apoptozisi artırıp, hücre çoğalmasını ve metastazını azaltır (65).



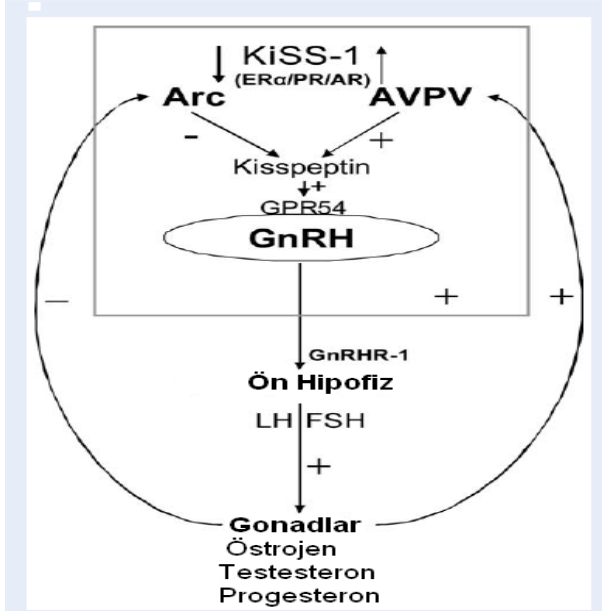
Şekil 3. Kisspeptinin etki mekanizması

1.3.5. Kisspeptinin Hipotalamik Düzenlenmesi

Beynin GnRH salınımını kontrol eden bölgelerinde KiSS-1 mRNA'larının eksprese olduğu ve bu bölgelerin arkuat nükleus (Arc), periventriküler nükleus (PeN) ve anteroventralperiventriküler nükleus (AVPV) olduğu tespit edilmiştir (66).

Bu nükleuslar tarafından kisspeptin salgılanmaktadır. Ancak AVPV seksüel dimorfizm göstermektedir. Dişilerde bu çekirdekten ekspresyon daha fazla yapılmaktadır. Gonadal steroidler Arc'deki KiSS-1 nöronlarını inhibe ederken (negatif geri bildirim), AVPV'deki KiSS-1 nöronlarını uyarmaktadır (pozitif geri

bildirim) (Şekil 4) (7). Hipotalamustaki GnRH nöronlarında bulunan GPR54 reseptörlerine kisspeptinlerin bağlanmaları sonucunda oluşan sinyaller hipofizyal dolaşıma GnRH verilmesini sağlamaktadır. Gonadotropin salgılatıcı hormon ise hipofizdeki GnRH reseptörlerine bağlanarak hipofizden gonadotropinlerin (FSH, LH) salınımını gerçekleştirmektedir (67).



Şekil 4. Gonadal steroidler tarafından arkuat ve anteroventralperiventriküler nükleusdaki KiSS-1 nöronlarının regülasyonu

1.3.6. Çevresel ve Metabolik Faktörlerin Kisspeptinle İlişkisi

Uzun süreli açlığın HHG aksını baskıladığı bilinmektedir. Aç bırakılan farelerin KiSS-1 mRNA'sının normal beslenen farelere göre daha düşük seviyelerde bulunduğu gösterilmiştir (68). Gonadotropin salgılatıcı hormon aksı ve KiSS/GPR54 üzerine leptinin aracılık ettiği nütrisyonel enerjinin gerekli olduğu düşünülmektedir (69). Kisspeptinin pankreatik beta hücrelerinden insülin serbestlenmesini lokal olarak etkilediğinin ve fare hipotalamusunda KiSS-1 mRNA ekspresyonunun leptin tarafından modüle edildiğinin gösterilmesi ile kisspeptin nöronlarının enerji homeostazının santral regülasyonunda da rol oynayabileceğini akla getirmiştir (70, 71). Yakın zamanda yapılan araştırmalarda artmış GAH düzeylerinin hipotalamusta KiSS-1 gen ekspresyonunu suprese ettiği gösterilmiştir (18).

1.3.7. Kisspeptinin Puberte Üzerine Etkisi

İmmatür dişi sıçanlarda ve agonadal juvenil maymunlarda yapılan deneysel çalışmalar da kisspeptinin puberteyi başlattığı kanıtlanmıştır (72, 73). Ancak insanlarda santral sinir sisteminde yaygın şekilde dağılım gösteren ve hipotalamusta GnRH nöronları üzerindeki GPR54 reseptörlerini aktive eden kisspeptinin üreme üzerine etkisi 2003 yılında anlaşılabilmiştir (67, 74). Farklı iki grup tarafından yapılan çalışmalarda GPR54 gen mutasyonunun İHH sonuçlandığı gösterilmiştir (75, 76). Daha sonra yapılan çalışmalarda İHH olgularında çeşitli GPR54 gen mutasyonları tanımlanmıştır. Buna rağmen GPR54 mutasyonu İHH'nin yaklaşık %2'sini oluşturmaktadır ve bunlarda gonodotropin tedavisiyle normal pubertal gelişim ve üreme sağlanabilmektedir (7).

Erken puberteli olgularda PCR yöntemi ile KiSS-1 ekspresyonunun arttığı ve otozomal dominant GPR54 aktive edici mutasyonun idiyopatik erken puberteye neden olduğu, inaktive edici mutasyonların ise normoosmik idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizmle (nİHH) sonuçlandığı gösterilmiştir (7, 72, 77).

Normoosmik idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm, anosmi/hiposmisi olmayan İHH olgularını kapsamaktadır. Hâlihazırda tanımlanmış genlerdeki mutasyonlar tüm nİHH olgularının en çok %30'unu açıklamaktadır. Dolayısıyla bozukluğunda nİHH'ye yol açan henüz tanımlanmamış gen veya genlerin varlığı güçlü bir olasılık olarak kabul edilmektedir (78). Topaloğlu ve ark. (78) nİHH fenotipine sahip 9 hasta ailesi arasından üç ailede Nörokinin B (NKB) reseptörünü kodlayan 4. kromozomun uzun kolunda bulunan TACR3 geninde, 1 ailede ise NKB'yi kodlayan 12. kromozomun uzun kolunda bulunan TAC3 geninde mutasyon tesbit etmişler. Bu mutasyonların fonksiyonel analizinde reseptör uyarı sonucu hücre içi kalsiyum artışının yetersiz olduğu ve sinyal iletiminin normal şekilde işlemediği görülmüştür.

Bu bilgiler ışığında KiSS-1 geni hipotalamusta kisspeptin proteininin sentezini sağlamak ve pubertenin başlamasında temel bir rol oynamaktadır. KiSS-1 nöronları NKB içeren nöronlardır. Tachykinin-3 (TAC 3) proteinini kodlayan TAC 3 geni NKB'i, TAC 3R geni ise NKB reseptörünü kodlamakta ve böylece KiSS-1 sistemi aktive olmaktadır (79). İnsan pubertesinin hipotalamik düzeyde kontrolü için

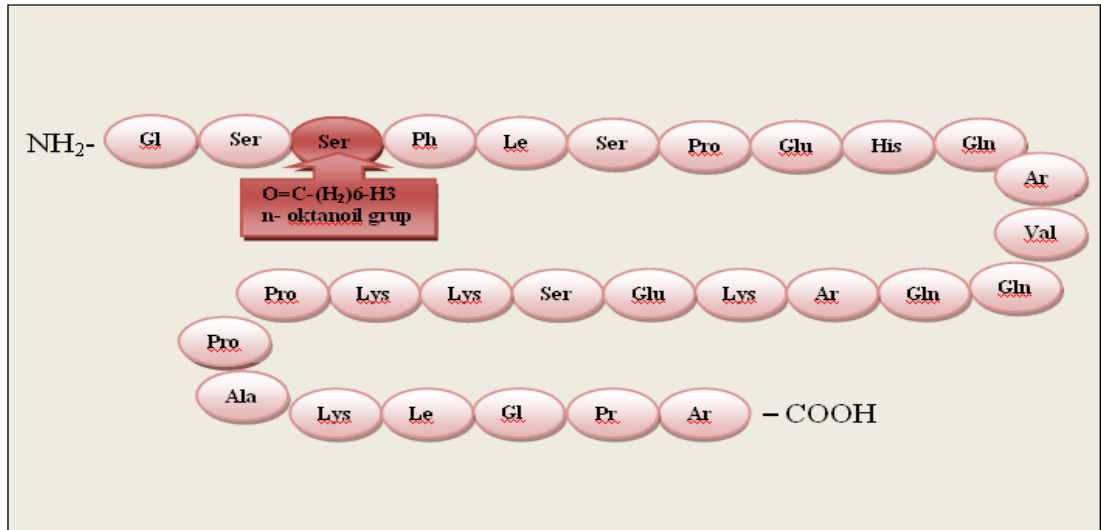
Kisspeptin yolağının yanında şimdi de NKB yolağının sağlıklı işleyişinin bir zorunluluk olduğu anlaşılmaktadır.

1.4. Ghrelin

Ghrelin 1999 yılında Japon bilim adamları tarafından keşfedilmiştir. Ghrelin ismi, Hint-Avrupa dilleri ailesindeki gelişim anlamına gelen grow sözcüğünün kökü olan “ghre” ile salgılatma anlamına gelen “relın” sözcükleri birleştirilerek türetilmiştir (11). Temel olarak mide fundusundan salınan 28 amino asitlik lipopeptid yapıda bir hormondur (11, 80-82). Bu hormon mideden başka SSS, hipotalamus, hipofiz, tükrük bezi, tiroid bezi, ince barsak, böbrekler, kalp, pankreasın alfa, beta ve epsilon hücreleri, akciğer, plasenta, gonadlar, immün sistem, meme ve dişlerde de sentezlenmektedir (81, 82).

1.4.1. Ghrelin Gen Ürünlerinin Sentezi ve Yapısı

Ghrelin geni insanlarda 3p25-26’da bulunur. Yarılanma ömrü 15-20 dakika olan GAH; vücut sıvılarında ve dokularda iki farklı formda bulunmaktadır (82). Ghrelin geninin major aktif ürünü, 3. pozisyondaki serin amino asiti bir oktanol grup ile açillenmiş, matür GAH olarak adlandırılan ve 28 aminoasitten oluşan açillenmiş GAH’dır (Şekil 5) (11, 80-85).



Şekil 5. Ghrelininin 28 aminoasitlik moleküler yapısı

Oktanil grubu GAH’ın aktif olması için gereklidir Yani oktanil grubu içeren GAH aktif GAH olan açile ghrelindir (aGAH). Bünyesinde yağ asidi içermeyen

GAH ise desaçile ghrelindir (dGAH) ve dGAH inaktif GAH olarak da bilinmektedir (80-82).

1.4.2. Ghrelin ve Türevlerinin Doku Dağılımı

Vücutta GAH üretimi ile ilişkili oksintik bez ve santral sinir sistemi olmak üzere iki hücrel alan bulunmaktadır. Ghrelin çoğunlukla mide fundus mukozası oksintik bezleri içerisindeki GAH hücreleri benzeri hücreler tarafından üretilmektedir (11). Dolaşımda bulunan GAH'ın büyük miktarının mideden salgılandığı ve geriye kalan kısmın ise çoğu ince barsak ve hipotalamus gibi Arc.'den eksprese edildiği gösterilmiştir (11, 86, 87).

1.4.3. Dolaşımdaki Ghrelin Gen Ürünü Peptidler

Desaçile ghrelin dolaşımdaki toplam GAH miktarının yaklaşık %80-90'ını oluşturmaktadır. Açile ghrelinin sistemik dokularda BHSR bağlanmasında ve dolaşımdan hızla temizlenmesinde, yarılanma ömrünün dGAH'den daha kısa olması belirleyicidir (88). Ghrelinin yarılanma ömrünün kısa olmasından ise plazmada desaçil ghreline hızla desaçilasyonu sorumludur (89).

1.4.4. Ghrelin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması

1.4.4.1 Ghrelin Reseptörleri ve Etki Mekanizması

Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör geni 3q26.2'dedir. Büyüme hormonu salgılatıcı reseptörü, BHSR-1a ve BHSR-1b olmak üzere iki izoformda bulunmaktadır (90). Ghrelinin iştah, gıda alımı ve enerji balansı üzerine etki ettiği bölgeler olan hipofiz bezi ve hipotalamusta BHSR-1a reseptörleri yaygın olarak izole edilmiştir (91). Biyolojik ritim, hafıza, öğrenme gibi fonksiyonların kontrol edildiği SSS'nin hipokampus, substantia nigranın pars kompakta bölgesinde, dorsal ve medial raphe, Edinger–Westphal çekirdekleri ve piriform kortekste de BHSR-1a ekspresyonu gösterilmiştir (92). Ayrıca, BHSR-1a aktivasyonu GAH'ın birçok etkisine aracılık eden vagal nod ganglionlarında, mide, bağırsak, pankreas, adrenal ve tiroid bezi, gonad, over dokusu, tümöral dokular gibi birçok periferel organda da gösterilmiştir (92, 93).

Desaçile ghrelin BHSR-1a'ya bağlanamadığı için, etkilerinin oluşmasına başka reseptörler aracılık etmelidir. Desaçile ghrelin için spesifik ve aGAH için ortak reseptörlerin bulunması mümkün olmakla beraber; şu ana kadar bunların hiçbiri karakterize edilememiştir. Desaçile ghrelinin hücre proliferasyonu ve metabolizma

üzerine biyolojik aktivite gösterdiği, kardiyomyozit, adiposit, prostatik ve iskelet kası hücre membranlarına bağlandığı gösterilmiştir (94-96).

1.4.4.2. Ghrelinin Büyüme Hormonu Salınımına Etkisi

Ghrelin BH salgılanması, iştah ve vücut ağırlığı, glukoz metabolizması, lipid metabolizması, otonom sinir sistemi ve ısı üzerine regülatör etki göstermektedir (97). Ghrelinin BH ile ilişkisi ilk keşfedilen etkilerindendir. Ghrelin BH salınımını hem in vitro hem de invivo şartlarda doz bağımlı olarak arttırmaktadır (11, 98-100). İnsan ve köpeklere GAH'ın intravenöz verilmesi BH salınımını stimüle etmektedir (81). Ghrelin BHRH salınımını artırırken, somatostatin azaltmaktadır.

1.4.5. Ghrelin ve Hastalıklar

Bir takım hastalıklarda GAH seviyeleri (Tablo 3) (97).

Tablo 3. Hastalıklara göre ghrelin düzeyi

Ghrelinde artış	Ghrelinde azalma	Normal ghrelin
Boy kısalığı	Akromegali	Akromegali
Çölyak hastalığı	Tip II diyabetes mellitus (DM)	Tip I DM
Anoreksiya nevroza	İnsülin direnci	
Kansere bağlı anoreksiya	Demir eksikliği	
Kaşeksi		
Kronik böbrek yetmezliği		
Peritoneal diyaliz		
Hemodiyaliz hastaları		

1.4.6. Ghrelinin Puberte Üzerindeki Etkisi

Ghrelin BH salınımını artırırken iştahı da artırmakta ve böylece obeziteye neden olmaktadır. Puberte boyunca GAH sekresyonu progressif olarak düşmektedir ancak bunun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Bu dönemde GAH seviyeleri düşerken gonodotropin, BH, Estradiol (E₂) düzeyleri artmaktadır (13, 14, 101). Bunun tersine GnRH analogu ile tedavi edilen GEP'li hastalarda tedavi öncesi yüksek seyreden E₂ ve GAH seviyelerinin tedavi sırasında birlikte düştüğünü gösteren çalışmalarda vardır (102). Pubertal dönemdeki GAH düzeylerindeki değişikliğinin nedeni halen ortaya konulamamıştır. (103). Bu değişiklikler cinsiyet tarafından da etkilenmekte, puberte döneminde erkek çocuklarda kızlara göre daha fazla oranda GAH düşüklüğü görülmektedir (101).

Yılmaz ve ark. (104) intraperitoneal yolla kisspeptin-10 uygulanan sıçanlarda serum GAH seviyelerinin azaldığını göstermişlerdir. Bu sebeple Kisspeptin/GPR54 kompleksinin HHG eksenin önemli düzenleyicilerinden biri olduğu ve ayrıca enerji metabolizmasının regülasyonunda da rol alabileceği ileri sürülmektedir (105, 106).

KiSS-1 geninin peptid ürünleri kisspeptinler ve reseptörleri GPR54'ün tanımlanmasıyla, üreme aksının fizyolojik kontrolünden ve patofizyolojik değişimlerinden sorumlu mekanizmalar ile ilgili anlayışımız değişime uğramıştır. Son on yılda toplanan veriler, KiSS-1/GPR54 sisteminin merkezi ve periferik uyarıları birleştirmeye izin veren, GnRH fonksiyonunun kapıcısı olduğunu göstermektedir. Kisspeptin yolağının aktivite kazandığı olgularda erken puberte, oluşan mutasyonlar sonucu bu yolağın bloke olduğu durumlarda ise pubertenin geciktiği gösterilmiştir.

Ghrelinin BH'i salınımını uyardığı, iştah ve enerjinin alımında düzenleyici olarak bir rol oynadığı bilinmektedir. Kalorinin eksik olduğu nutrisyonel boy kısıklıklarında YBG ve GP'ye benzer paralellikle seyreden büyüme ve puberte eğilimi görülmektedir. Yetersiz enerji durumunda adaptif olarak artan GAH düzeylerinin KiSS nöronları üzerine inhibitör etki ile puberteyi geciktirdiği sanılmaktadır. Bunun tersi durumda ise azalan GAH etkisiyle HHG aksının aktive olabileceği düşünülmektedir.

Puberte bozukluklarının henüz sebebinin tam olarak ortaya konulamamış olması kisspeptin, GAH, leptin gibi nöroendokrin moleküler patolojilerin üzerinde araştırmaları yoğunlaştırmıştır. Etyolojisi tam olarak aydınlatılamamış puberte bozuklukları literatürde idiopatik olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak yukarıda sayılan peptitlerle ilişkili olarak son yıllarda özellikle kisspeptin ve leptin yolağındaki bozuklukların keşfi ile bir takım olguların etyolojisi aydınlatılmıştır. Buna rağmen olguların birçoğunun nedeni halen bilinmemektedir.

Bu çalışmanın amacı; hipotalamus üzerinden pubertenin başlamasında rolleri olduğu ileri sürülen kisspeptin ve GAH'nın, puberte varyantı kabul edilen PT ve PA ile GP olgularında hem serum düzeylerini hemde bu iki peptidin birbirleriyle ilişkisini belirlemektir. Ayrıca bu iki peptidin puberte bozukluklarını birbirinden ayırt etmede bir parametre (belirteç) olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Çalışma Grubu

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Endokrinoloji kliniğine başvuran ve puberte bozukluğu (izole prematür telarş, izole adrenarş, izole menarş, erken ve gecikmiş puberte) tanısı konulan 1-18 yaşları arasındaki kız ve erkek çocuklardan alınan kan örnekleri üzerinde gerçekleştirildi. Çalışmanın ilk aşamasını hastaların seçimi oluşturdu. Polikliniğimize 8 yaşından önce meme gelişimi ve/veya pubik kıllanma, 10 yaşından önce menarş ile başvuran kız çocuklar ile 9 yaşından önce testiküler büyüme ile başvuran erkek çocuklar erken puberte, sekonder seksüel karakter gelişimi olmayan 13.5 yaşından büyük kız, 14 yaşından büyük erkek çocuklar gecikmiş puberte tanısıyla çalışmaya alındı.

Puberte bozukluğu ile başvuran hastaların ayrıntılı anamnezleri alınıp ve fizik muayeneleri yapıldıktan sonra tanısız amaçlı rutin tetkikleri istendi. Olguların meme ve genital gelişimi Tanner'e göre evrelendirildi (Tablo 4, 5, 6, 7) (107, 108). İlaç kullanımına, kranial, adrenal ve gonadal tümörlere sekonder gelişen pubertal bozukluklara sahip olan olgular çalışmaya alınmadı. Her olgu ve kontrol grubu için ailelerin ve yaşı uygun olanların yazılı onayları alındı.

Tablo 4. Erkeklerde Tanner genital evreleri

G1:	Prepubertaldır. Skrotum, penis ve testisler erken çocukluk dönemindeki ölçü ve orandadır.
G2:	Skrotum ve testis büyümüştür ve skrotal deri dokusunda değişim vardır. Ayrıca skrotal deride hafif pembelik vardır.
G3:	Penis büyümesi görülür. Başlangıçta uzunlamasına sonra beraberinde enlemesine büyür. Testis ve skrotumda büyüme devam eder.
G4:	Penis glansında büyümeyle beraber en ve boy olarak büyümeye, testis ve skrotum genişlemeye devam eder. Skrotal derinin rengi daha da koyulaşır
G5:	Genital ölçü ve şekil bakımından erişkin tiptedir. Daha fazla büyüme görülmez.

G: Genital

Meme gelişimi olan kızlar ve testiküler büyüme saptanan erkeklerde erken puberte ön tanısı ile serum FSH, LH ve E2/T, tiroid stimulan hormon (TSH), serbest tiroksin (sT4), total tiroksin (TT4) düzeyleri çalışıldı. Kızlara pelvik USG yapılarak over ve uterus boyutları, endometrial kalınlık ve overde foliküler kist varlığı ve

sayısına bakıldı. Pelvik USG'si, fizik muayenedeki Tanner evresi ve kemik yaşı erken puberte ile uyumlu olmakla birlikte bazal LH'sı düşük olan hastalara (<0.6 mIU/mL) lüteinize edici hormon salgılatıcı hormon (LHRH) testi yapıldı. Test sonucunda pik LH değerinin ≥ 5 mIU/mL üzerine çıktığı durumlar GEP lehine değerlendirildi. Gerçek erken puberte tanı kriterlerini taşıyan hastalara hipofiz ve kraniyal MRI çekilerek SSS'e ait patolojiler araştırıldı.

Tablo 5. Erkeklerde pubik kıllanmanın Tanner evreleri

PK1:	Prepubertal, pubik kıllanma yok
PK2:	Uzunlamasına büyüyen, seyrek, hafif pigmente, düz veya hafif kıvrımlı, penis tabanı çevresinde yerleşimli ince tüyler vardır
PK3:	Kıllar oldukça koyu, kalın ve daha kıvrıktır. Pubisin birleşme yerlerine seyrek olarak yayılmıştır
PK4:	Kıl yetişkin tiptedir ama daha az yer kaplar
PK5:	Nicelik ve tip olarak yetişkin tiptedir. Uyluğun medialine yayılmıştır ama üçgen tabanından yukarıya veya linea albaya çıkmaz

PK: Pubik kıllanma

Tablo 6. Meme gelişimi Tanner evreleri

M1:	Prepubertaldır
M2:	Meme ve papilla büyür, areolar çap genişler
M3:	Konturları ayrılmadan areola daha fazla genişler
M4:	Areola ve papilla memenin üstünde ikinci bir katman olarak çıkıntı yapar
M5:	Matür evredir, areoladaki kabarıklık geriler, yalnızca papilla belirgindir

M: Meme

Tablo 7. Kızlarda pubik kıllanmanın Tanner evreleri

PK1:	Prepubertal, pubik kıllanma yok
PK2:	Uzunlamasına büyüyen, seyrek, hafif pigmente, düz veya hafif kıvrımlı, en çok labia boyunca yerleşimli ince tüyler vardır
PK3:	Kıllar oldukça koyu, kalın ve daha kıvrıktır. Pubisin birleşme yerlerinde seyrek olarak yayılmıştır
PK4:	Kıl yetişkin tiptedir ama daha az yer kaplar
PK5:	Nicelik ve tip olarak yetişkin tiptedir. Klasik feminen paterndeki ters üçgen şekilde yayılmıştır. Uyluğun medialine yayılmıştır

Pubertenin pubik kıllanma ile başladığı hastalarda altta yatan nonklasik KAH'ı ekarte etmek için Dihidroepiandrostenodion sülfat (DHES04), Androstenodion, 11-deoksikortizon (11-DOC), testosteron ve 17-alfa-OH-progesteron düzeylerine bakıldı. Referans aralığının üzerinde değerleri olan hastalara standart doz adrenokortikotrop hormon (ACTH) testi uygulandı.

Bu tetkikler sonucu pubertal bozukluğu kesinleşen olgular alt gruplara ayrıldı. Aşağıdaki kriterleri taşıyan hastalara GEP tanısı konuldu.

1. Kızlarda meme gelişimi veya pubik kıllanmanın 8 yaşından önce, erkeklerde testis büyümesi ve kıllanmanın 9 yaşından önce başlaması
2. Kızlarda menarşın 10 yaşından önce olması
3. Yıllık büyüme hızının ≥ 6 cm
4. Kemik yaşının kronolojik yaştan +2 SD ileri olması
5. Bazal LH ve FSH'nin pubertal düzeyde olması veya LHRH testine LH'nin ≥ 5 mIU/mL, LH/FSH oranının >1 olması
6. Pelvik USG de uterus uzun çapının $>3,4$ cm ve over hacminin $>1,5$ cm³ olması
7. 3-6 aylık takiplerinde pubertal ilerlemenin hızlı olması ve kemik yaşı /takvim yaş oranının >1 olması ve tahmini erişkin boyda düşmeye neden olması
8. Erken puberteyi izah edecek nörolojik, anatomik, organik bir patolojinin olmaması

Yukarıda tanımlanan fizik muayene ve laboratuvar bulgularına uymayan kız ve erkek çocuklar, fizik muayene ve laboratuvar sonuçlarına göre izole PT, izole PA gruplarına ayrıldı.

Gecikmiş puberte olguları kızlarda 13.5, erkeklerde 14 yaşına kadar sekonder seksüel karakterleri ortaya çıkmayan YBG ve GP'si olan olgulardan seçildi. Hipogonadizimli olgular çalışma dışı bırakıldı.

Yapısal büyüme geriliği ve GP tanısı koymak için kesin bir laboratuvar tanı yöntemi yoktur. Boy kısalığı ve GP'ye yol açan diğer nedenlerin elenmesiyle YBG ve GP tanısı konulabilmektedir. Yapısal büyüme geriliği ve puberte gecikmesi tanısı için şu kriterleri kullandık (109).

1. Yaşa göre boyun üçüncü persentilin altında olması

2. Vücut oranları dahil, normal fizik muayene bulgularının olması
3. Son bir yıl içinde büyüme hızlarının yaşa göre beşinci persentilin üzerinde bulunması
4. Pubertenin gecikmiş olması
5. Kemik yaşlarının geri olması
6. Belirgin malnutrisyon olmaması
7. Anne ve baba boyuna göre hesaplanan hedef boylarının üçüncü persentilin üzerinde olması, başka bir deyişle ailesel boy kısalığının bulunmaması
8. Hesaplanan hedef boylarıyla, tahmin edilen erişkin boylarının birbirine yakın olması
9. Boy kısalığına neden olacak sistemik veya kronik hastalıklarının bulunmaması.

Kontrol grubu hastanemize rutin muayene ve tarama amacıyla başvuran, çeşitli nedenlerden dolayı tetkik yapılması planlanan sağlıklı çocuklardan oluşturuldu. Bu çocukların fizik muayenelerinde boy ve kiloları ölçüldü. Erken puberte için kontrol grubu meme gelişimi ve/veya pubik kıllanma şikâyeti olmayan, fizik muayene bulguları prepubertal çocuklardan seçildi. Gecikmiş puberte kontrol grubu ise pubertal bulguları olan sağlıklı ergenlerden seçildi. Bu hastalarında genel sistem muayenesi ve pubertal evrelemesi Tanner'e göre yapıldı. Bu çocuklara ek hiçbir girişim yapılmadan rutin tetkik amacıyla intravenöz yoldan alınan kanlarına ilaveten, ailenin rızası alınarak yalnızca 3 cc kan alındı. Alınan örneklerden kisspeptin, aGAH ve dGAH düzeyi çalışıldı.

Çalışma grupları kisspeptin için şu şekilde oluşturuldu:

- Grup 1. Prematür telarş tanısı alanlar (40 hasta)
- Grup 2. Prematür adrenarş tanısı alanlar (23 hasta)
- Grup 3. Prematür menarş tanısı alanlar (6 hasta)
- Grup 4. Gerçek erken puberte tanısı alanlar (5 hasta)
- Grup 5. Gecikmiş puberte tanısı alanlar (19 hasta)
- Grup 6. Kontrol grubu PT için (20 denek)
- Grup 7. Kontrol grubu PA için (20 denek)
- Grup 7. Kontrol grubu GP için (20 denek)

Çalışma grubu GAH için şu şekilde oluşturuldu:

- Grup 1. Prematür telarş tanısı alanlar (19 hasta)
- Grup 2. Prematür adrenarş tanısı alanlar (19 hasta)
- Grup 3. Gecikmiş puberte tanısı alanlar (19 hasta)
- Grup 4. Kontrol grubu PT için (14 denek)
- Grup 5. Kontrol grubu PA için (20 denek)
- Grup 6. Kontrol grubu GP için (10 denek)

2.2. Kan Örnekleri

Kisspeptin ve GAH için hastaların ve kontrol grubunun venöz kan örnekleri aç karnına 3 ml olacak şekilde, saat 08⁰⁰-09⁰⁰ saatleri arasında çocuk endokrin ünitesinde alındı. Alınan kanlara aşağıdaki laboratuvar protokolü uygulandı.

1. Rutin venöz kan alma yöntemi
2. K₂EDTA tüpleri buza yerleştirildi
3. Alınan kan örnekleri (3 ml) K₂EDTA'lı tüplere yerleştirildi
4. Kişi başına iki tüp hazırlandı (3 ml / 2)
5. En geç 1 saat içinde tüpler santrifüj edildi (+4 °C, 2.500 rpm, 20 dk)
6. Plazma, önceden buz üzerinde soğutulmuş ve "proteaz inhibitör kokteyl solüsyonu" içeren polypropylene tüplere transfer edildi
7. Tüpler vorteks ile karıştırıldı
8. Plazma örnekleri hemen -80 °C'de dondurularak saklandı.

Çalışmanın ikinci aşamasında yukarıdaki protokole göre alınıp saklanan bu kan örneklerinden üretici firmanın önerileri doğrultusunda GAH ve kisspeptin düzeyleri belirlendi.

Plazma kisspeptin, desaçile ve açile GAH düzeylerini ölçmek için ELISA yöntemi kullanıldı (Açıl ghrelin Human Acylated (Açil) Ghrelin Enzyme Immunoassay Kit (Katolog No: A05106) SPI Bio Bertin Pharma, desaçil ghrelin Human Unacylated (desaçil) Ghrelin Enzyme Immunoassay Kit (Katolog No:A05119), SPI Bio Bertin Pharma, kisspeptin (KiSS-1 (112-121) Amide / Kisspeptin-10/Metastin (45-54) Amide (Human) EIA KIT (Katolog No:EK-048-56), Phoenix Pharmaceuticals, INC.) Ghrelin düzeyleri pg/ml cinsinden, kisspeptin de ng/ml cinsinden bulundu. Kisspeptin için bulunan değerler her bir hasta için pmol/L'e çevrildi.

2.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler için SPSS 12.0 paket programı kullanılarak değerlendirildi. Prematür telarş, PA, GP'li çocuklarla sağlıklı kontrollerden oluşan grupların normal dağılımı Kolmogorov–Smirnov testi ile değerlendirildikten sonra, aralarında anlamlı bir ilişkinin bulunup bulunmadığını göstermek için Independent-Sample T Testi kullanıldı. Gerçek erken puberte olgu sayısı az olduğu için bu grup ile kontrolü Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldı. Hasta gruplarındaki ölçülen değişkenler arasındaki korelasyonları göstermek için ise Pearson korelasyon analizi uygulandı. Bütün değerler ortalama \pm standart sapma ve ortalama \pm standart hata ortalaması (SEM) şeklinde ifade edildi. Elde edilen p değerinin $p<0.05$ olması anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmada kisspeptin düzeylerine PT grubunda yer alan 40 kız hasta ile, 20 sağlıklı kızda bakıldı. Hastaların yaşları 1.1-7.9 yıl arasındaydı. Prematür telarş grubundaki kızların yaş ortalaması 4.7±2.8 yıl, boy ortalaması 106.0±22.8 cm, kilo ortalaması 18.9±8.6, VKİ'i ortalaması 15.89±2.11 kg/m², kemik yaşı ortalaması 4.61±2.59 yıl olarak bulundu. Kontrol grubunda ise yaş ortalaması 5.0±2.1 yıl, boy ortalaması 105.6±14.4 cm, kilo ortalaması 17.6±4.9 kg, VKİ'i ortalaması 15.74±2.18 kg/m² idi. İki grup arasında antropometrik değerlerde bir farklılık yoktu.

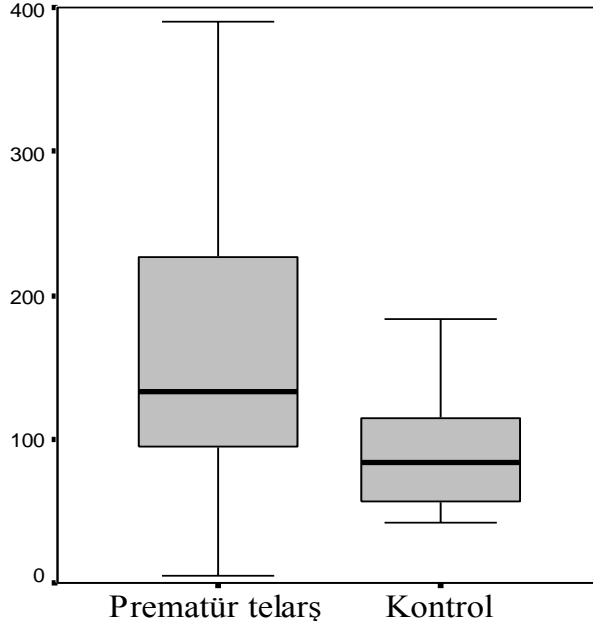
Prematür telarş grubunun kisspeptin düzeyleri 165.47±15.45 pmol/L, aGAH düzeyleri 30.45±13.88 pg/ml, dGAH düzeyleri 300.56±52.97 pg/ml, kontrol grubunda ise kisspeptin 96.82±12.33 pmol/L, aGAH 31.01±6.12 pg/ml, dGAH 201.41±32.04 pg/ml olarak bulundu. Prematür telarş grubu ve kontrol grubu arasında GAH düzeyleri arasında istatistiksel olarak bir farklılık yokken, kisspeptin değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı (p=0.005) (Tablo 8, Şekil 6, 7, 8).

Tablo 8. Prematür telarş ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri

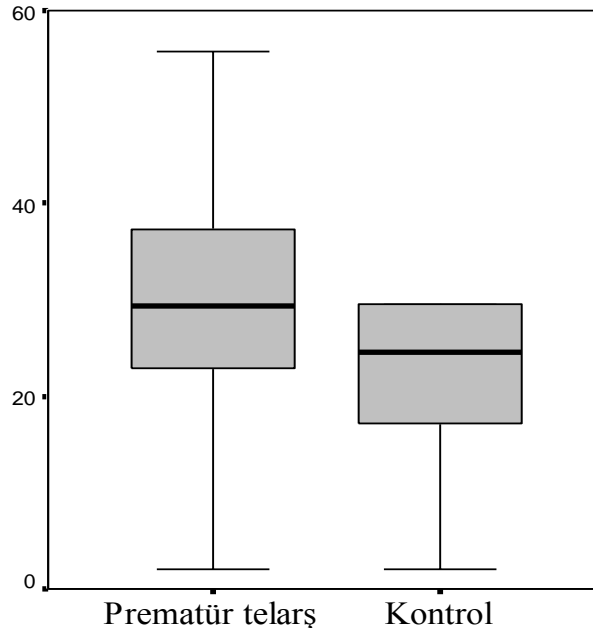
		Prematür telarş (n =40)	Kontrol (n= 20)	p
Yaş	ort ± SD (yıl)	4.7±2.8	5.0±2.1	0.676
	(alt-üst)	(1.1-7.9)	(1.3-7.9)	
Boy	ort ± SD (cm)	106.0±22.8	105.6±14.4	0.940
	(alt-üst)	(69.5-137.0)	(77.0-124.5)	
Ağırlık	ort ± SD (kg)	18.9±8.6	17.6±4.9	0.551
	(alt-üst)	(8.2-41.0)	(10.3-27.5)	
VKi	ort ± SD (kg/m²)	15.89±2.11	15.74±2.18	0.802
	(alt-üst)	(11.6-22.5)	(12.3-21.9)	
Kisspeptin	ort±SEM (pmol/L)	165.47±15.45	96.82 ±12.33	0.005
	(alt-üst)	(4.61-389.98)	(42.31-253.84)	
aGAH*	ort ± SD (pg/ml)	30.45± 13.88	31.01±6.12	0.931
	(alt-üst)	(2.07-55.74)	(2.09-75.70)	
dGAH*	ort ± SEM (pg/ml)	300.56±52.97	201.41±32.04	0.153
	(alt-üst)	(39.70-872.20)	(33.60-379.34)	

SEM: Std. Error Mean, SD: Standart Deviasyon Alt: En küçük değer, Üst: En yüksek değer, VKİ: Vücut kitle indeksi, *:Prematür telarş grubunda 19, kontrol grubunda ise 14 çocukta GAH bakıldı

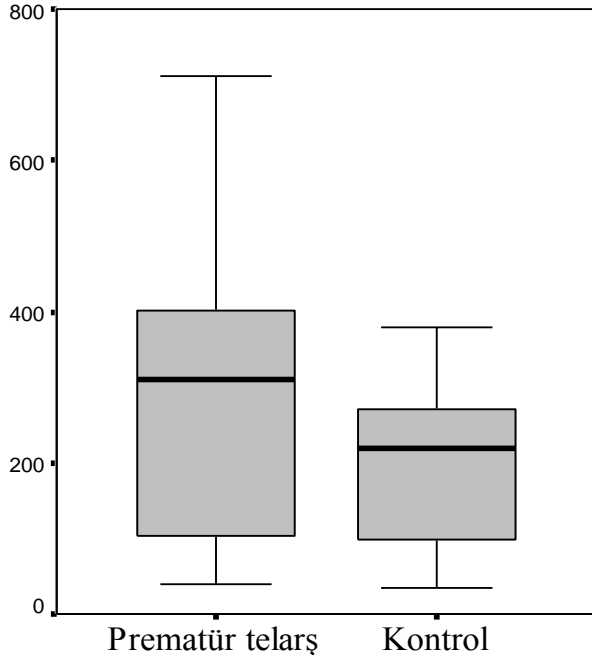
Prematür telarş grubundaki hastaların 39'u Tanner evrelemesine göre M2, 1 hasta ise M3 gelişimine sahipti. Bu hastaların 11'inde meme gelişimi tek taraflı iken geri kalanında bilateral meme gelişimi vardı. Kontrol grubundaki çocukların hiç birisinde meme gelişimi, aksiller kıllanma ve/veya pubik kıllanma yoktu.



Şekil 6. Prematür telarş ve kontrol grubu kisspeptin düzeyleri

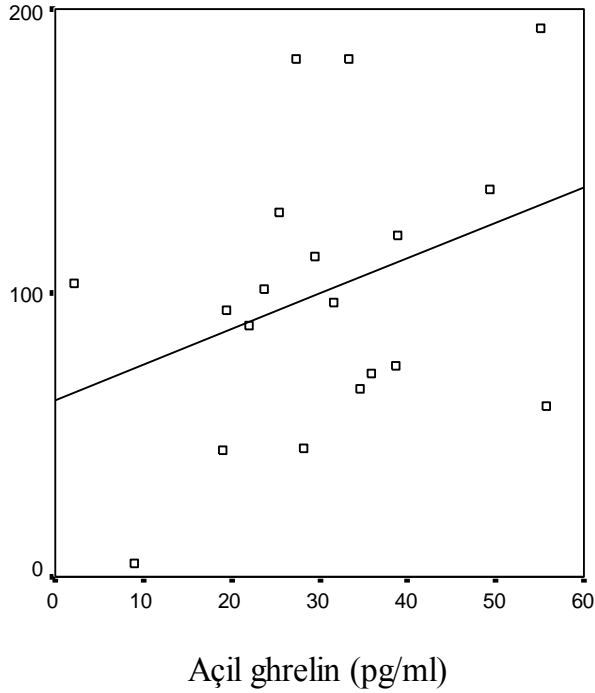


Şekil 7. Prematür telarş ve kontrol grubu açil ghrelin düzeyleri

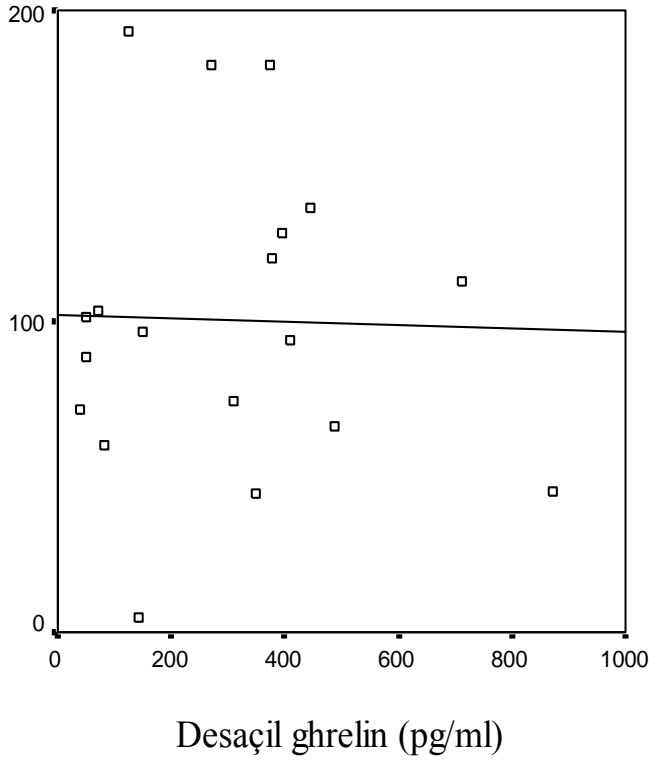


Şekil 8. Prematür telarş ve kontrol grubu desaçil ghrelin düzeyleri

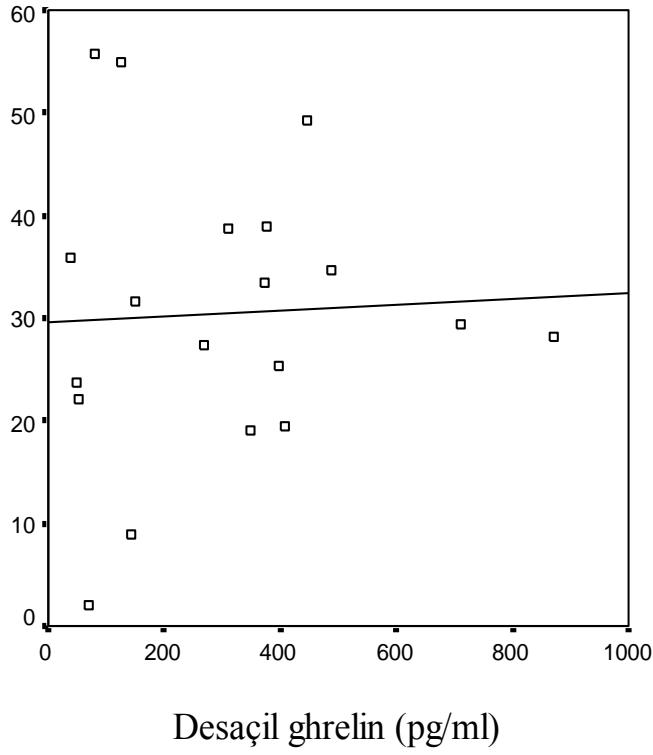
Prematür telarş grubunda kisspeptin-aGAH arasında pozitif ($p=0.348$, $r=0.145$), kisspeptin-dGAH arasında negatif korelasyon ($p=0.914$, $r=-0.027$), aGAH-dGAH arasında ise pozitif korelasyon ($p=0.844$, $r=0.048$) bulunmasına rağmen, hiçbiri arasında anlamlı bir fark yoktu (Şekil 9, 10, 11).



Şekil 9. Prematür telarş kisspeptin ve açıl ghrelin düzeylerinin korelasyonu



Şekil 10. Prematür telarş kisspeptin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu



Şekil 11. Prematür telarş açilghrelin ve desaçilghrelin düzeylerinin korelasyonu

Prematür adrenarş grubunda 23 hastaya kisspeptin düzeyine bakıldı. Bunların yaş ortalaması 7.1±0.9 yıl, boy ortalaması 125.4±8.3 cm, kilo ortalaması 28.9±7.9 kg, VKİ'i ortalaması 18.2±3.8 kg/m², kemik yaş ortalaması 7.0±0.7 idi. Kontrol grubu yaş ortalaması 6.5±2.2 yıl, boy ortalaması 115.1 ±14.6 cm, kilo ortalaması 23.4±6.9 kg, VKİ'i ortalaması 17.3±3.0 kg/m² idi. Takvim yaşları, VKİ arasında anlamlı bir fark yok iken, boy ve kiloları kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlıydı (sırasıyla p=0.006, p=0.022).

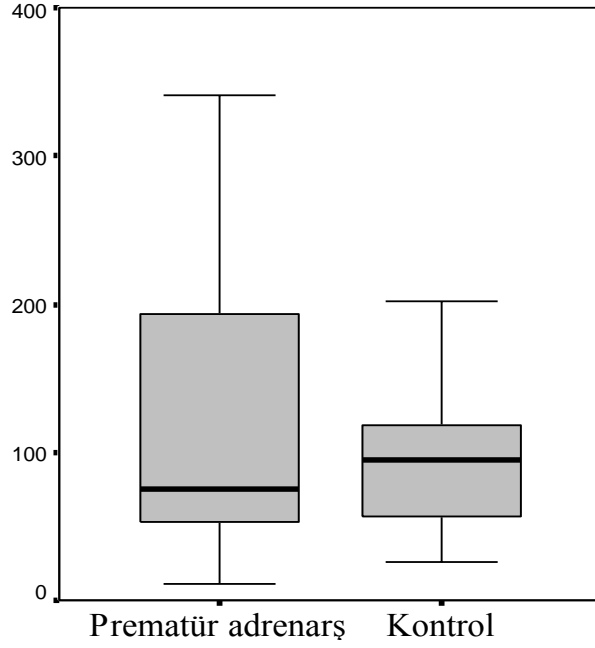
Prematür adrenarşı grubu kisspeptin 121.36±17.99 pmol/L, aGAH 25.40±5.06 pg/ml, dGAH düzeyi ise 260.27±51.07 pg/ml bulundu. Kontrol grubunda ise kisspeptin 95.52±11.54 pmol/L, aGAH 32.64±4.45 pg/ml, dGAH 272.16±31.98 pg/ml olarak bulundu. Her iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark yoktu (sırasıyla p=0.249, p=0.290, p=0.841) (Tablo 9, Şekil 12, 13, 14).

Tablo 9. Prematür adrenarş ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri.

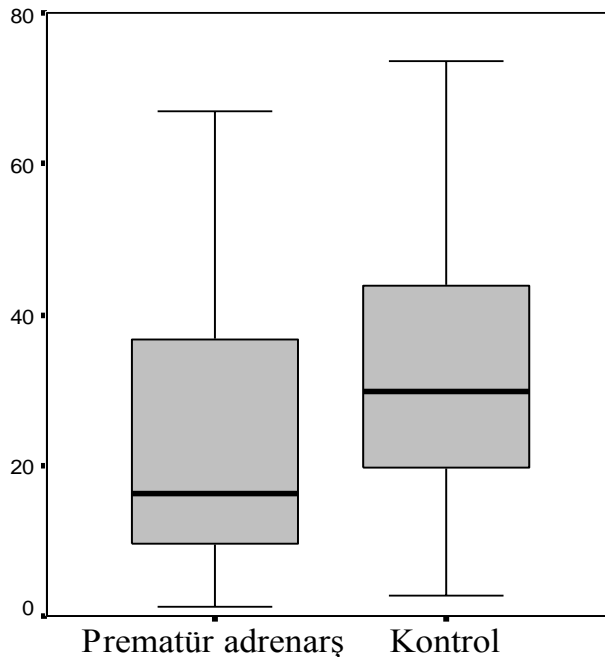
		Prematür adrenarş (n =23) (K/E=20/3)	Kontrol (n =20) (K/E=13/7)	p
Yaş	ort ± SD (yıl)	7.1±0.9	6.5±2.2	0.229
	(alt-üst)	(4.8-8.6)	(2.1-8.9)	
Boy	ort ± SD (cm)	125.4±8.3	115.1±14.6	0.006
	(alt-üst)	(106.7-141.5)	(87.2-140.4)	
Ağırlık	ort ± SD (kg)	28.9±7.9	23.2±6.9	0.018
	(alt-üst)	(17.3-44.7)	(13.6-34.7)	
VKi	ort ± SD (kg/m²)	18.2±3.8	17.3±3.0	0.399
	(alt-üst)	(13.5-25.3)	(12.3-26)	
Kisspeptin	ort±SEM (pmol/L)	121.36±17.99	95.52±11.54	0.249
	(alt-üst)	(10.77-340.76)	(25.38-223.07)	
aGAH*	ort ± SEM (pg/ml)	25.40±5.06	32.64±4.45	0.290
	(alt-üst)	(1.18-67.70)	(2.63-73.72)	
dGAH*	ort ± SEM (pg/ml)	260.27±51.07	272.16±31.98	0.841
	(alt-üst)	(33.20-1012.34)	(71.56-504.78)	

SEM: Std. Error Mean, SD: Standart Deviasyon Alt: En küçük değer, Üst: En yüksek değer, VKİ: Vücut kitle indeksi, * : Prematür adrenarş grubunda 19, kontrol grubunda ise 20 çocukta GAH bakıldı.

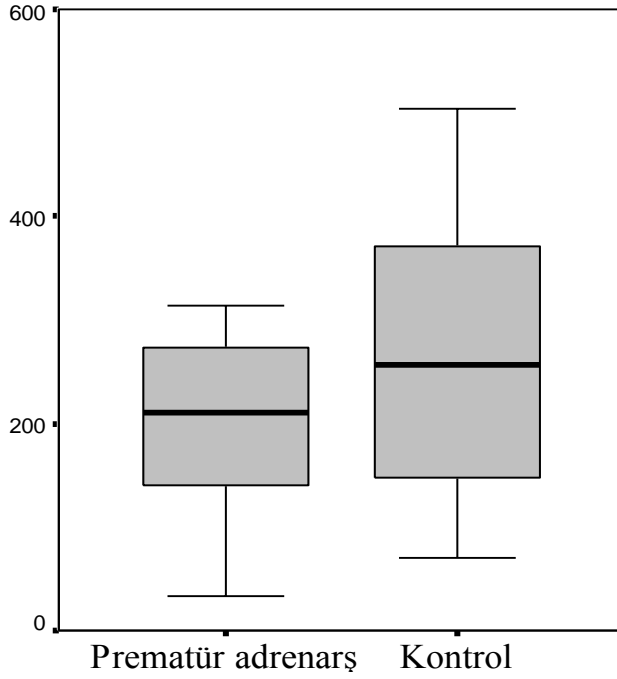
Prematür adrenarş grubu 20 kız, 3 erkek hastadan oluşmaktaydı. 5 kız hastanın PK2 düzeyinde iken, diğer hastaların tamamı PK3 gelişimine sahipti. Üç erkek çocuğun hepsinde testis boyutları prepubertal iken, PK2 şeklindeydi. Kız hastaların tamamında meme gelişimi prepubertal idi. Kontrol grubundaki çocukların ise hiçbirisinde meme gelişimi, pubik ve aksiller kıllanma yoktu.



Şekil 12. Prematür adrenarş ve kontrol grubu kisspeptin düzeyleri

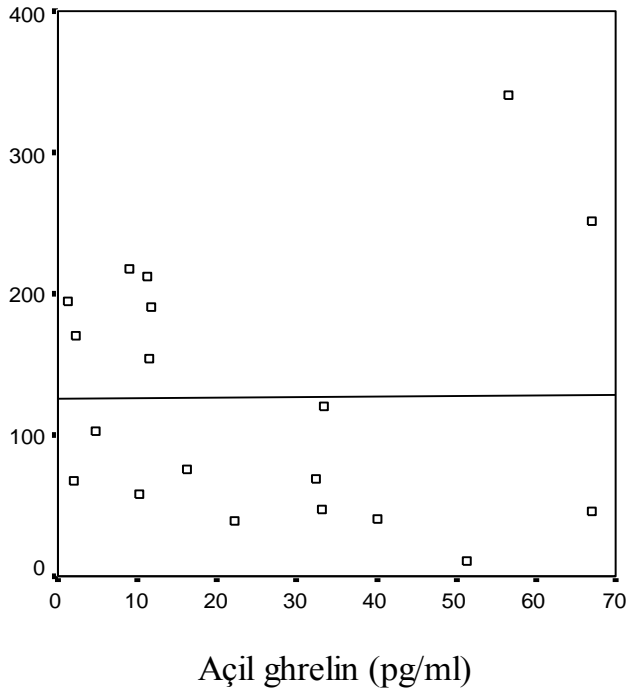


Şekil 13. Prematür adrenarş ve kontrol grubu açil ghrelin düzeyleri

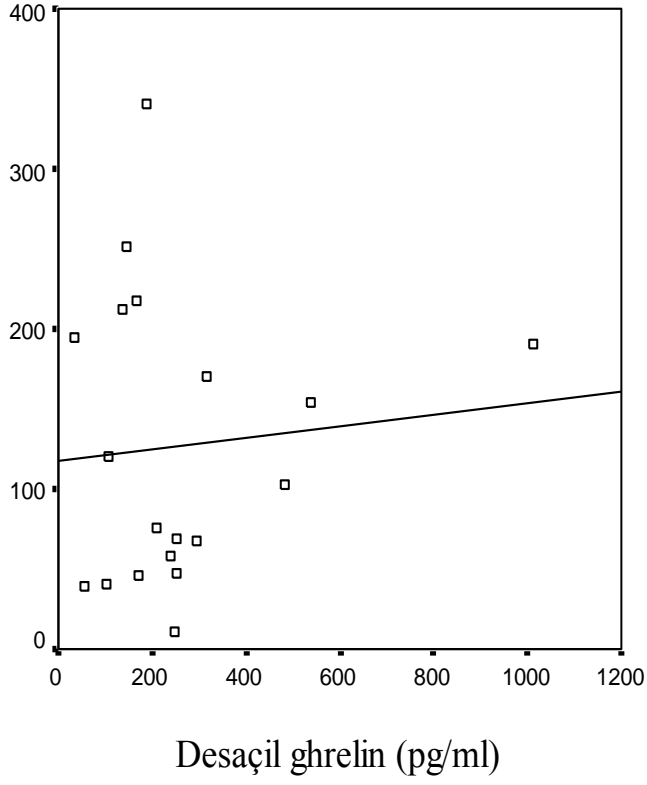


Şekil 14. Prematür adrenarş ve kontrol grubu desaçılghrelin düzeyleri

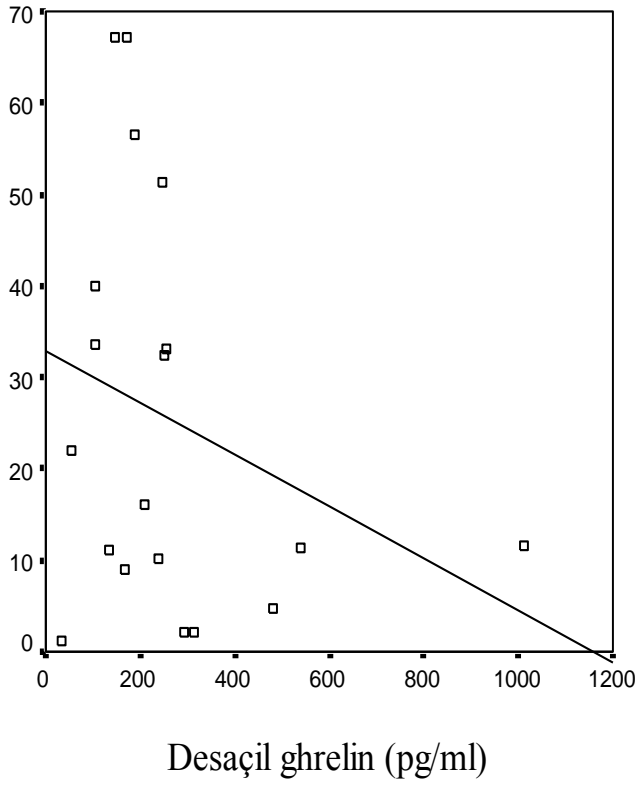
Prematür adrenarş grubunda kisspeptinle-aGAH ($p= 0.978$, $r= 0.007$) ve kisspeptinle-dGAH arasında pozitif korelasyon ($p= 0.712$, $r= 0.091$) varken, aGAH ve dGAH arasında negatif korelasyon ($p=0.235$, $r=-0.286$) bulundu. Ancak hiç biri istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 15, 16, 17).



Şekil 15. Prematür adrenarş kisspeptin ve açıl ghrelin düzeylerinin korelasyonu



Şekil 16. Prematür adrenarş kisspeptin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu



Şekil 17. Prematür adrenarş açil ghrelin ve desaçil ghrelin düzeylerinin korelasyonu

Gecikmiş puberte grubunda toplam 14 erkek, 5 kız hasta vardı. Tanner evrelendirmesine göre kızların 2'si PK1, 2'si PK2, 1 tanesinde PK4 şeklindeydi. Erkeklerin ise 4'ü PK1, 8'i PK2, 2'si PK3 şeklindeydi. Ancak hastaların hiç birisinde meme ve testis gelişimi pubertal düzeyde değildi.

Kontrol grubu ise 10 kız, 10 erkek çocuktan oluşturuldu. Erkek çocukların 8'in de Tanner evrelendirmesine göre PK3, 1'in de PK2, diğerinde ise PK4 evredeydi. Hepsinin testis volümleri 4 ml ve üzerindediydi. Kız çocukların ise Tanner evrelendirmesine göre 3'ünde PK2, 5'inde PK3, 2'sinde PK4 bulunmakta idi. Bu çocukların meme evrelemesi ise 1'inde M2, 6'sında M3, diğer 3'ünde ise M4 şeklindeydi (Tablo 10).

Tablo 10. Gecikmiş puberte ve kontrollerinde genital evrelendirme

		PK1 (n)	PK2 (n)	PK3 (n)	PK4 (n)	M1 (n)	M2 (n)	M3 (n)	M4 (n)
Kız	(Gecikmiş puberte)	2	2	-	1	5			
Erkek	(Gecikmiş puberte)	4	8	2		-			
Kız	(Kontrol)		3	5	2		1	6	3
Erkek	(Kontrol)		1	8	1	-			

Gecikmiş puberte grubunda erkek hastaların Prader orşidometresi kullanılarak ölçülen sağ testis volümlerinin ortalaması 3.2 ± 0.9 ml, sol testis volümlerinin ortalaması ise 3.6 ± 1.3 ml bulundu. Kontrol grubundaki erkeklerin sağ testis volümlerinin ortalaması 8.2 ± 1.5 ml, sol testis volümlerinin ortalaması ise 11.4 ± 0.9 ml idi (Tablo 11).

Tablo 11. Gecikmiş puberte ve kontrol grubunun testis volümleri

		Sağ testis Ort \pm SD (ml)	Sol testis Ort \pm SD (ml)
Gecikmiş puberte	(n=14)	3.2 ± 0.9	3.6 ± 1.3
Kontrol	(n=10)	8.2 ± 1.5	11.4 ± 0.9

Gecikmiş puberte grubunda 19 hastada kisspeptin ölçümü yapıldı. Bu gruptaki hastaların yaş ortalaması 14.7 ± 0.6 yıl, boy ortalaması 145.8 ± 11.7 cm, ağırlık 38.4 ± 8.6 kg, VKİ'i ortalaması 18.0 ± 2.5 kg/m², kemik yaş ortalaması 12.5 ± 0.64 yıl idi. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 14.5 ± 0.8 yıl, boy ortalaması 161.1 ± 5.2 cm, ağırlık ortalaması 54.4 ± 6.1 kg, VKİ'i ortalaması 20.9 ± 1.8 kg/m² idi. Her iki grup arasında boy, ağırlık ve VKi arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark vardı ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) (Tablo 12).

Tablo 12. Gecikmiş puberte ve kontrol grubunun antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri

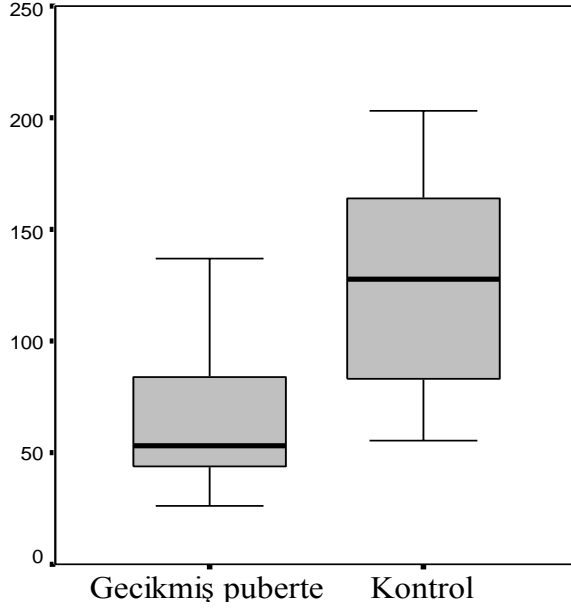
		Gecikmiş puberte (n=19)(K/E= 5/14)	Kontrol (n=20) (K/E=10/10)	p
Yaş	ort ± SD (yıl)	14.7±0.6	14.5±0.8	0.268
	(alt-üst)	(13.7-16.0)	(13.5-16.7)	
Boy	ort ± SD (cm)	145.8±11.7	161.1±5.2	<0.001
	(alt-üst)	(125.5-166.4)	(149.4-168.7)	
Ağırlık	ort ± SD (kg)	38.4±8.6	54.4±6.1	<0.001
	(alt-üst)	(28.7-58.4)	(44.2-63.5)	
VKİ	ort ± SD (kg/m²)	18.0±2.5	20.9±1.8	<0.001
	(alt-üst)	(13.3-22.4)	(17.1-23.5)	
Kisspeptin	ort±SD (pmol/L)	62.80±30.53	125.72±46.58	<0.001
	(alt-üst)	(26.34-136.94)	(55.30-203.45)	
aGAH*	ort ± SEM (pg/ml)	27.84± 3.92	16.79± 4.44	0.091
	(alt-üst)	(2.10-58.58)	(2.06-41.44)	
dGAH*	ort ± SEM (pg/ml)	115.63 ±18.69	82.36 ±18.82	0.265
	(alt-üst)	(10.25-262.55)	(9.70-184.45)	

SEM: Std. Error Mean, SD: Standart Deviasyon Alt: En küçük değer, Üst: En yüksek değer, VKİ: Vücut kitle indeksi, * : Gecikmiş puberte grubunda 19, kontrol grubunda ise 10 çocukta GAH bakıldı

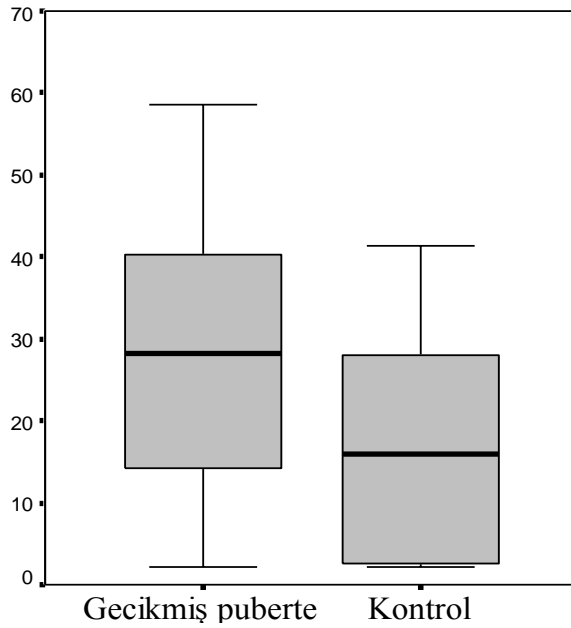
Gecikmiş puberte grubunda kisspeptin düzeyi 62.80 ± 30.53 pmol/L, aGAH düzeyi 27.84 ± 3.92 pg/ml, dGAH düzeyi 115.63 ± 18.69 pg/ml, kontrol grubunda ise kisspeptin düzeyi 125.72 ± 46.58 pmol/L, aGAH düzeyi 16.79 ± 4.44 pg/ml, dGAH düzeyi 82.36 ± 18.82 pg/ml bulundu. Hasta grubuyla kontrol grubunda kisspeptin düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark varken ($p < 0.001$), aGAH ve

dGAH düzeyleri arasında ise anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla $p=0.091$, $p=0.265$) (Tablo 12) (Şekil 18, 19, 20).

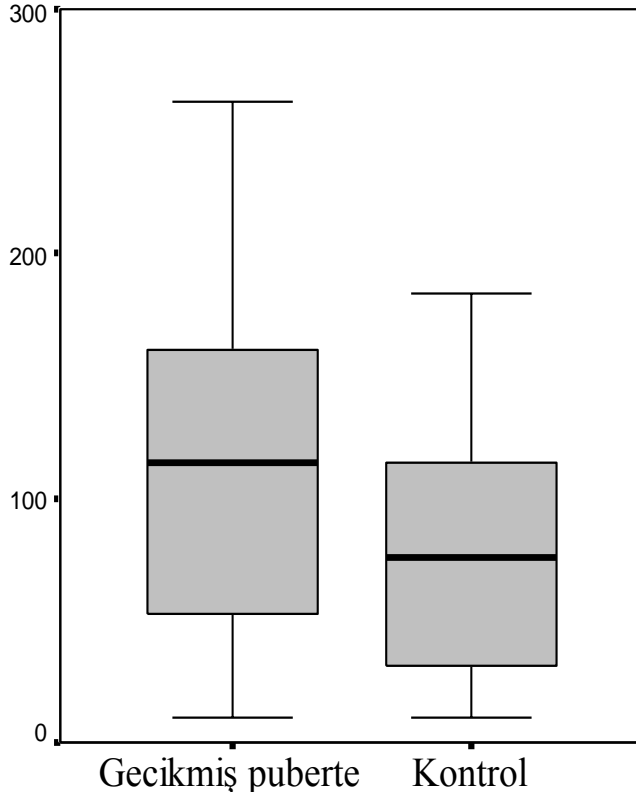
Gecikmiş puberte grubunda kisspeptinle-aGAH ($p=0.079$, $r= -0.413$) ve kisspeptinle-dGAH arasında negatif korelasyon ($p=0.574$, $r=-0.138$), benzer şekilde aGAH-dGAH arasında da negatif korelasyon ($p=0.442$, $r=-0.187$) tesbit edildi. Ancak hiçbirinde istatistiksel anlamlılık yoktu (Şekil 21, 22,23).



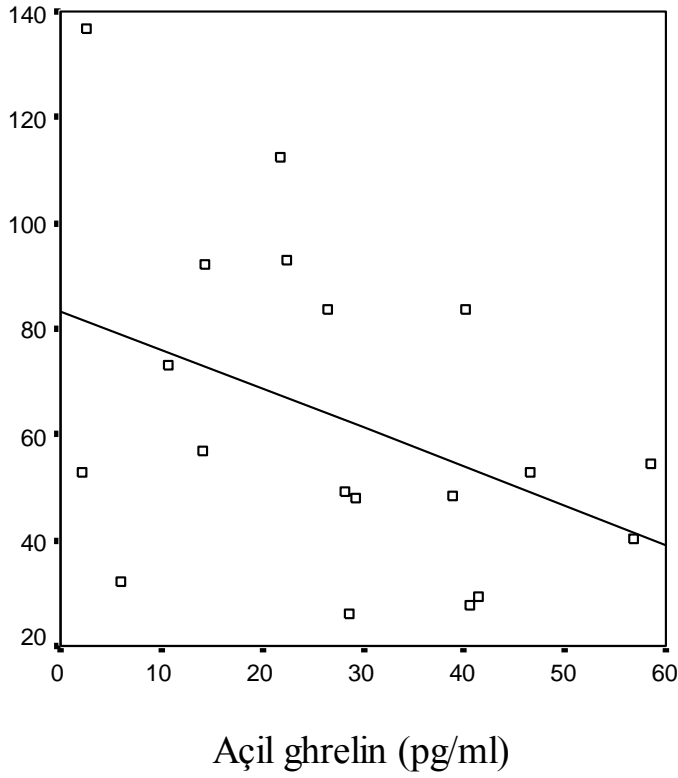
Şekil 18. Gecikmiş puberte ve kontrol grubu kisspeptin düzeyleri



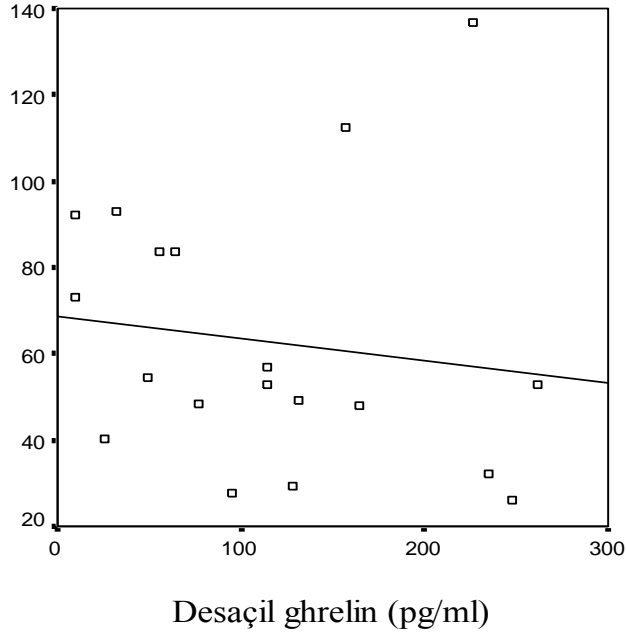
Şekil 19. Gecikmiş puberte ve kontrol grubu açıl ghrelin düzeyleri



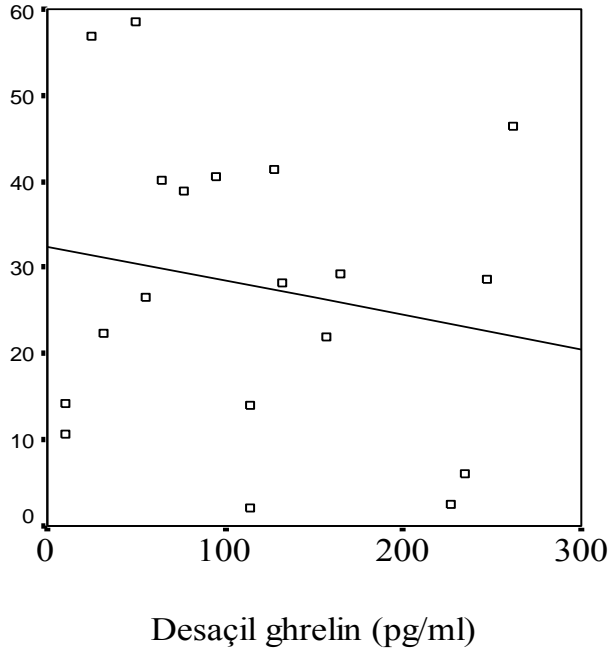
Şekil 20. Gecikmiş puberte ve kontrol grubu desaçil ghrelin düzeyleri



Şekil 21. Gecikmiş puberte kisspeptin ve açıl ghrelin düzeylerinin korelasyonu



Şekil 22. Gecikmiş puberte kisspeptin ve desaçıl ghrelin düzeylerinin korelasyonu



Şekil 23. Gecikmiş puberte açıl ghrelin ve desaçıl ghrelin düzeylerinin korelasyonu

Çalışmamızda gerçek erken puberte tanısı alan 5 hastanın kisspeptin düzeyine bakıldı. Gerçek erken puberte hastalarının yaş ortalaması 5.6 ± 2.4 yıl, boy ortalaması 113.1 ± 23.6 cm, ağırlık ortalaması ise 23.2 ± 9.3 kg, kemik yaşı ortalaması ise 6.4 ± 3.7 olarak bulundu. Kontrol grubunda ise yaş ortalaması 5.5 ± 1.9 yıl, boy ortalaması

109.9±14.1 cm, ağırlık ortalamasında 18.3±5.0 kg idi. İki grup arasında antropometrik değerlerde bir farklılık yoktu.

Gerçek erken puberteli olgular ile kontrol grubu kisspeptin düzeyleri arasında istatistiksel anlamlılık vardı (sırasıyla 259.45±73.44 pmol/L, 127.89±60.29 pmol/L, p=0.01) (Tablo 13)

Gerçek erken puberte grubundaki hastaların hepsi kız idi. Bunların Tanner evrelemesi; 3'ü M2, 2'si M3, 3'ü PK1, 2'si PK2 şeklinde idi.

Tablo 13. Gerçek erken puberte hastalarının antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri

		Gerçek erken puberte (n=5)	Kontrol (n=10)	p
Yaş	ort ± SD (yıl)	5.6±2.4	5.5±1.9	0.759
	(alt-üst)	(2.0-7.6)	(1.5-7.8)	
Boy	ort ± SD (cm)	113.1±23.6	109.9±14.1	0.668
	(alt-üst)	(77.0-136.0)	(80.0-123.0)	
Ağırlık	ort ± SD (kg)	23.2±9.3	18.3±5.0	0.283
	(alt-üst)	(10.3-33.2)	(13-26)	
Kisspeptin	ort ± SD (pmol/L)	259.45±73.44	127.89±60.29	0.01
	(alt-üst)	(178.34-378.46)	(46.15-253.84)	

Prematür menarş tanısı alan 6 hastanın ise yaş ortalaması 10.1±0.7 yıl, boy ortalaması 145.8±7.5 cm, kilo ortalaması 41.3±6.1 kg, kemik yaşı ortalaması 11.4±0.5 yıl olarak bulundu.

Prematür menarş grubunda bulunan kızların genital evreleme ise 2'si M2, 4'ü M3, 2'i PK1, 3'ü PK4, 1'i PK5 şeklindeydi.

Prematür menarş grubu kisspeptin düzeyi ortalaması 201.74±71.37 pmol/L idi. Bu hastalara uygun kontrol grubu oluşturulamadığından istatistiksel değerlendirme dışında tutuldu (Tablo 14).

Tablo 14. Prematür menarş olgularının antropometrik ölçümleri ve kisspeptin düzeyleri

		Prematür menarş (n=6)	
Yaş	ort ± SD (yıl)	(alt-üst)	10.1±0.7 (9.1-10.8)
Boy	ort ± SD (cm)	(alt-üst)	145.8±7.5 (137.3-156.4)
Ağırlık	ort ± SD (kg)	(alt-üst)	41.3±6.1 (35.6-50.6)
Kemik yaşı	ort ± SD (yıl)	(alt-üst)	11.4±0.5 (11.6-13.4)
Kisspeptin	ort ± SD(pmol/L)	(alt-üst)	201.74±71.37 (105.45-300.94)

4. TARTIŞMA

Puberte bozuklukları, erken puberte ve gecikmiş puberte şeklinde 2 grupta incelenebilir (4). Sekonder seksüel özelliklerin erken görülmesine (kızlarda 8, erkeklerde 9 yaşından önce) veya normal populasyona göre puberte başlangıç yaşının yaklaşık olarak 2 SD öne kaymasına erken puberte, kızlarda 13.5, erkeklerde 14 yaşına kadar sekonder seksüel karakterlerin ortaya çıkmamasına da gecikmiş puberte denmektedir (4). Erken puberte ise GEP, YEP ve pubertenin varyantları olan PT, PA, PM şeklinde sınıflandırılmaktadır (4).

Erken puberte kızlarda 20/10.000, erkeklerde 5/10.000 sıklığında görülmektedir (110). Sekonder seks karakterlerine ek olarak erken pubertenin başka kriterleri de göz önüne alınırsa öngörülen prevalansı %0.6 veya 1/160 olmaktadır (110, 111). Son yıllarda puberteye girme yaşının öne kaydığı iddia edilmektedir (112). Tüm dünyada görülen ve yüzyılın eğilimi olarak adlandırılan bu durum beslenme değişiklikleri, sosyoekonomik şartların iyileşmesi, sağlık ve hijyen koşullarının düzelmesi, kentleşmede artışa bağlanmaktadır (23, 113, 114).

Puberte hipotalamustan salgılanan GnRH ile tetiklenmektedir. Gonadotropin salgılatıcı hormonun ritmik sinyaline yanıt olarak LH ve FSH salgılanmakta, buna bağlı olarak matür gamet üretimi ve gonadal steroid sekresyonu gerçekleşmektedir (50). Fakat GnRH'yı salgılayan nöronların nasıl aktive olduğu halen tam olarak bilinmemektedir. Bir kısım nöromediatör ve hormonların rolü olduğu iddia edilmektedir. Bunların arasında kisspeptin, leptin, GAH yer almaktadır (5).

Kisspeptinlerin hipotalamustaki GnRH nöronlarında bulunan GPR54 reseptörlerine bağlanması ile oluşan sinyaller, hipofizyel dolaşıma GnRH salgılatmaktadır. Adipoz dokudan salgılanan leptin ise Arc. nukleusdaki KiSS-1 transkripsiyonunu uyararak, KiSS/GPR54 sistemi üzerinden pulsatil GnRH salınımı için sinyal üretmektedir (5).

Pubertede metabolik değişikliklerden sorumlu tutulan GAH ise BH üzerinden etki etmektedir. Büyüme hormonu IGF-I düzeylerini artırmak suretiyle kas hacminde, iskelet mineralizasyonunda, lineer büyümede artışa sebep olmaktadır (115). Çocuk ve erişkinlerde yapılan çalışmalarda GAH ve IGF-I arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir. Pubertedeki GAH'ın düşüşünden IGF-I düzeylerindeki artmanın sebep olduğu tahmin edilmektedir (116).

Beslenme ve puberteye giriş arasındaki ilişki yıllardır ilgilenilen bir konu olmuştur. Vücut kitle indeksi (VKİ)'nin fazla olması, puberteye giriş ve menarş yaşının erkene kaymasına neden olmaktadır (117). Obezite, vücut yağı ve pubertal zamanlama arasındaki olası ilişkiye aracılık eden faktörler araştırılmaktadır (19). Bu faktörlerin en önemlileri ve üzerinde en çok araştırma yapılanları; leptin ve GAH'dır.

Sekonder cins karakterleri olmadan izole meme gelişimine PT denmektedir. İzole PT benign bir durumdur. Sekiz yaştan önce herhangi bir dönemde gözlenebilen bu durumun sıklığı ilk 2 yaşta artmaktadır (118, 119). Prematür telarşın etiyojisi halen net olmamakla birlikte; meme dokusunun östrojene artmış duyarlılığı, over kistlerinden geçici östrojen salgılanması, diyetle artmış östrojen alımı, HHG aksının geçici aktivasyonu suçlanmaktadır (26, 120). Son yıllarda GPR54'ün fonksiyon kazanımına yol açan mutasyonların GnRH salınımını artırdığı ve bu olguların GEP fenotipine ilerlediği gösterilmiştir (77).

Prematür telarş bazı olgularda GEP'in ilk bulgusu olarak ortaya çıkabilmekte ve bu durumun ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Bu ayırıda fizik muayene, kemik yaşı, büyüme hızı ve LHRH uyarı testi kullanılmaktadır (4). Gerçek erken başlangıçlı puberte ile PT, PA'yı ilk aşamada birbirinden ayırt etmek bazen zor olabilmektedir. Hangi olgularda erken püberte bulgularının gelişeceğine ilişkin %100 sensitif ve spesifik laboratuvar bulgusu, bir belirteç günümüze dek saptanamamıştır. Bu yüzden klinik öngörü ve izlem tanıda altın standart olarak değerini korumaktadır (20, 121). Her ne kadar PT'nin pubertenin normal bir varyantı olduğu söylensedeyse, bazı olgularda GnRH sistemi aktive olabilmekte ve zamanla GEP'e dönüşebilmektedir (4). Prematür telarşlı olguların takibinde %18'inin, PA'lı olguların ise kızlarında %20'sinin GEP'e ilerlediği bilinmektedir (122-125).

Prematür telarş tanısı kesinleşen olgularımızın takvim yaşı ortalaması 4.7 ± 2.8 yıl idi. Bu oldukça küçük bir yaştı. Bu durum bir yaşından itibaren PT gelişen olguların çalışmamıza dahil etmemizden kaynaklanmaktadır. Bizim bu kadar küçük yaştakileri almamızın nedeni literatürde PT'in genellikle 1 yaşından sonra ortaya çıktığının ifade edilmesidir. De Vries ve ark.'ı (20) çalışması GEP olgularını içerdiği için onların yaş ortalamasının bizimkilerden fazla olması doğaldır.

Prematür telarş ve kontrol grubu arasında antropometrik veriler bakımından fark yoktu. Bu sonuç izole PT'de somatik büyümenin meme büyümesine eşlik etmediği görüşüyle uyumludur (29).

De Vries ve ark.'nın (20) çalışmasında GEP'li kızlarda (31 kız) plazma kisspeptin düzeyinin ortalaması 14.62 ± 10.2 pmol/L, kontrol grubunu oluşturan prepubertal kızlarda (14 kız) ise kisspeptin düzeyi ortalaması 8.35 ± 0.98 pmol/L bulunmuş. Bu değerlerin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ifade edilmiş. Bizim çalışmamızda kisspeptin düzeyleri PT grubunda 165.47 ± 15.45 pmol/L, kontrol grubunda 96.82 ± 12.33 pmol/L idi. Aynen yukarıdaki çalışmada olduğu gibi PT'li grup kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir fark göze çarpıyordu. Burada bizim değerlerimizin de Vries ve ark.'nın (20) çalışmasındaki kisspeptin değerlerine göre daha yüksek olması, kisspeptin kitinden ve çalışma yöntemlerinden (RIA ve ELISA) kaynaklanmış olabilir. Ancak her iki çalışmada hem GEP hemde PT olgularında kontrollere göre kisspeptin düzeylerinin yüksek bulunması HHG aksının aktive olduğunu göstermektedir.

De Vries ve ark.'nın (20) çalışmasında lüteinizan hormon pikinin 5 IU/L nin üzerinde olduğu 21 GEP'li hasta ile kontrol grubu arasındaki kisspeptin farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuşken, istatistiksel değerlendirmeye tüm hastalar dahil edildiğinde ise kontrol grubu ile hasta grubunun kisspeptin düzeyleri arasında sınırdan anlamlı sayılabilecek bir sonuç bulunmuştur. O çalışmanın sonucunda lüteinizan hormon pikinin 5 IU/L nin üzerinde olduğu GEP'li hastalarda kisspeptinin GnRH'yı artırarak GEP'ye neden olabileceği kanaatine varılmıştır (20). Bizim sonuçlarımız pubertenin bir varyantı kabul edilen PT'in pubertal bir durum olduğunu yani HHG aksının aktivasyona geçtiğini göstermektedir. Bu da PT'in pubertenin bir varyantı değilde GEP'in bir formu olabileceğini işaret etmektedir.

Literatürde PT'li çocuklarda kisspeptin düzeyi ile ilgili herhangi bir çalışma olmamasına rağmen, bu hormonun puberte üzerindeki etkisi deneysel çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin intraserebroventriküler (İSV) ve periferal kisspeptin uygulanan ratlarda plazma FSH, LH düzeylerini arttığı tesbit edilmiştir (7, 58, 76). Kisspeptin-10 uygulandığında da benzer bir şekilde GnRH artışı ve buna bağlı gonadotropin aktivasyonu gösterilmiştir.

Elektrofizyolojik çalışmalar kisspeptinin eksitator rolünün, GnRH nöronları üzerinde potasyum kanallarını kapatmak, non selektif katyon kanallarını açmak ve böylece GnRH nöronları depolarize etmek suretiyle gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur (64, 126). Sentetik GPR54 antagonisti verildiğinde ise GnRH salınımının durduğu, kisspeptin uygulamasına rağmen LH salınımının azaldığı gösterilmiştir (66). Kisspeptinin koyun, rat, fare gibi hayvanlara ve insanlara verilmesiyle de benzer sonuç ortaya çıktığı ispat edilmiştir (58, 127). Ayrıca gonadotropin salgılatıcı hormon üzerinde eksitator olarak rol oynayan kisspeptinin invitro çalışmalarda GPR54 sistemindeki mutasyonla kazandığı aktivasyonun intraselüler sinyal artımına yol açarak GEP'e neden olduğu kanıtlanmıştır (77).

Bu literatür bilgileri ve bizim sonuçlarımız kisspeptinin puberte üzerinde olumlu bir rolünün olduğunu desteklemektedir. Ancak bunların doğruluğunu göstermek için daha büyük seriler ve uzun süreli takibe ihtiyaç olduğu aşikardır.

Vücut yağı ve pubertal zamanlama arasındaki olası ilişki periferik dokular ve hipotalamus arasındaki endokrin faktörler sayesinde olmaktadır (19). Ghrelin düzeyleri obezlerde ve metabolik sendromu olan olgularda baskılanmış, kaşektik, malnütrisyonlu ve anoreksia nervozalı olgularda ise yükselmiştir (128-131). Bu olgularda GAH düzeylerinde görülen değişikliklerin bu hastalıklara adaptif olarak gelişmiş cevaplar olduğu söylenmektedir. Ghrelinin BH salınımını uyarması yanında, beslenme üzerine de önemli bir rolü bulunmaktadır (5). Obez çocuklarda erken puberte, malnütre ve yeterli kiloya sahip olmayanlarda ise GP daha sık görülmektedir (132). Fakat puberte bozukluğu ve GAH arasındaki ilişkiyi ortaya koyan fazla çalışma yoktur.

Yukarıdaki bilgiler ışığında YBG ve GP olan çocuklarda GAH'ın daha az, erken pubertede ise daha etkin olduğu akla gelmektedir. Bizim verilerimiz bu düşüncenin doğru olmadığını yani PT ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadığını göstermektedir (sırasıyla aGAH: 30.45±13.88 pg /ml, 31.01±6.12 pg/ml, p=0.931; dGAH: 300.56±52.97 pg/ml, 201.41±32.04 pg/ ml; p=0.153) .

Zhu ve ark. (133) 6-9 yaş arası 84 kız hastayı semptom, klinik ve laboratuvar bulgularına göre GEP ve PT diye ikiye ayırmışlar. İdiopatik gerçek erken puberte (Log 2.42±0.26 ng/L) ile PT ve kontrol grubu GAH düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulmuşlar (sırasıyla, Log 2.62±0.21 ng/L, 2.58±0.44 ng/L). Prematür telarş ile

kontrol grubu arasında ise böyle bir fark tespit edememişler. Gerçek erken puberte tanımlı ancak Tanner evre III genital yapıya sahip olguların GAH seviyesi, Tanner II'ye sahip olanlara göre anlamlı bir şekilde daha düşük bulunmuş. Bizim PT olguları ile kontrol grubu olguları GAH düzeyleri arasında da bir fark olmaması, Zhu ve ark.'nın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu da bize GAH'ın PT'de anlamlı bir etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Cinaz ve ark. (134) 38 obez, 19 sağlıklı çocuğu prepubertal ve pubertal olmak üzere 2 gruba ayırarak, açlık ve tokluk plazma GAH, IGF-1 düzeylerine bakmışlar. Prepubertal 17 obez çocukta açlık GAH düzeyi 277.8 ± 106.4 pg/ml, tokluk düzeyi 205.2 ± 73.3 pg/ml, 21 pubertal obez çocukta açlık GAH düzeyi 194.9 ± 85.2 pg/ml, tokluk GAH düzeyi ise 162.7 ± 67.6 pg/ml olarak bulunmuştur. Obez olmayan sağlıklı 9 prepubertal çocukta açlık GAH düzeyi 328.9 ± 86.2 pg/ml, tokluk GAH düzeyi ise 251.4 ± 94.9 pg/ml, puberteye girmiş sağlıklı 10 çocukta açlık GAH düzeyi 424 ± 112.3 pg/ml, tokluk GAH düzeyi ise 363 ± 112.6 olarak bulunmuş. O çalışmada hem obez hem de kontrol grubunda açlık GAH düzeyleri, tokluk GAH düzeylerinden anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Ayrıca obez çocuklarda açlık ve tokluk GAH düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük olduğu saptanmıştır. Pubertal obezlerdeki açlık ve tokluk GAH arasında anlamlı bir farkın olmamasını cinsiyet hormonlarının yüksekliğine bağlamışlardır. Ayrıca obez ve kontrol grubundaki pubertal hastalarda yüksek bulunan IGF-I düzeyleri ile plazma GAH düzeyleri arasında negatif korelasyon tesbit edilmiş, bu bulgu IGF-I'in diğer faktörlerle beraber GAH düşüşünden sorumlu olabileceğini düşündürmüştür.

Jurimae ve ark.'nın (135) çalışmasında GAH'ın pubertal ve fiziksel aktivitedeki rolü incelenmiştir. Pubertal dönemdeki GAH seviyesinin prepubertal döneme göre azaldığı tespit edilirken, fiziksel aktivitesi olan çocuklarda daha yüksek bulunmuştur. Ghrelin seviyesinin prepubertal düzeylere göre pubertede progresif olarak azaldığını ve erişkin seviyesine indiği gösteren başka yayınlar da bulunmaktadır (13, 101). Maffeis ve ark. (102) 20 GEP tanısı alan hastanın GnRH analogu ile tedavisi esnasında serum GAH, LH, E₂ seviyesini izlemişler. Pubertede azalan GAH değerlerinin bu tedaviyle yükselmesini beklerlerken, tersine GAH'ın gonadal steroidlere benzer bir şekilde azaldığını tesbit etmişler. Bu durum östrojen ile GAH arasındaki regülasyon mekanizmalarına bağlanmıştır.

Prematür telarşda gonadotropin salgılatıcı hormonun kısmen aktive olduğunu ve pubertenin başladığını düşünürsek daha önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında dGAH yüksekliği çelişmektedir (13, 133, 134). Ancak literatürde GAH ve puberte arasında bir ilişkinin bulunmadığını gösteren çalışmalar ile bizim sonuçlarımız uyum göstermektedir. Ayrıca PT ve kontrol grubu arasında boy ve kilo açısından bir fark olmaması da GAH düzeylerinin benzer çıkmasına neden olmuş olabilir. Bu da PT ve GAH arasında önemli bir ilişkinin olmadığını ispat etmektedir. Yani PT'nin, aslında gerçek pubertenin somatik hızlanması olmaksızın, yalnızca HHG aksının aktive olduğu bir formu olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda PT grubu kisspeptin-aGAH düzeyleri arasında pozitif korelasyon ($p=0.348$, $r=0.145$), kisspeptin-dGAH düzeyleri arasında ise negatif korelasyon ($p=0.914$, $r= -0.027$) vardı. Fakat aralarında zayıf bir ilişki olan bu peptitlerin birbirleriyle korelasyonu istatistiksel olarak anlamlılık taşımıyordu. Literatürde aGAH, dGAH düzeylerinin birbirleriyle iyi korelasyon gösterdiği, bir çok durumda ikisi arasında bulunan sabit oranın iyi korunduğu bildirilmiştir (136, 137). Ancak çalışmamızda bu değerler arasında istatistiksel anlamlılık bulamadık. Bu duruma denek sayısındaki azlığın veya etnisitenin sebep olabileceği düşünüyoruz.

Adrenarş sürrenal bezlerin zona retikularisinden 6 yaş civarında dehidroepiandrostenodion (DHEA) ve DHEAS üretiminin başlamasıdır (138). Adrenarşın fenotipik sonucu olan pubarş kızlarda ve erkeklerde pubis ve/veya aksiller kıllanmanın ortaya çıkışıdır. Bu tablonun erkeklerde 9, kızlarda 8 yaştan önce ortaya çıkışı PA olarak tanımlanmaktadır (138). Prematür adrenarş bir dışlama tanısı olup; ayırıcı tanısında non-klasik KAH, virilizan tümörler ve erken püberte yer almaktadır (21).

Adrenarşı başlatan mekanizmalar henüz tam anlamıyla açıklanamamıştır. Ancak kızların %10'unda pubik kıllanma, pubertenin ilk bulgusu olabilmekte bu hastaların bir kısmı GEP'e ilerleyebilmektedir (107, 139-141). Düşük doğum ağırlığı, obezite, insulin direnci erken pubarşa eşlik edebilmektedir. Adrenarşın HHG aks maturasyonu ile ilişkisiz bir şekilde meydana geldiği ifade edilmektedir. Adrenarş cinsiyet hormonlarının prepubertal seviyelerde olduğu hipotalamik hipogonadizm ve hipergonadotropik hipogonadizmi çocuklarda da ortaya çıkabilir. Bu da adrenarşın HHG akstan ve gonadal fonksiyonlardan bağımsız olduğunu

göstermektedir (142). Hipofizer bezden salgılanan ama henüz keşfedilmemiş bir hormonun adrenarşi tetikleyebileceği düşünülmektedir (7). Prematür adrenaş tablosunda öteki pubertal bulgular ve virilizasyon özellikleri eklenmemekle beraber somatik gelişimde geçici bir hızlanma olabilir (33, 34). Prematür adrenarş grubumuzdaki hastalarla kontrol grubu arasında kilo ve boy açısından istatistiksel bir anlamlılık vardı (sırasıyla $p=0.022$, $p=0.006$). Gruplar arasındaki bu farkın, PA olgularının büyümesinde geçici bir hızlanma olduğunu ifade eden literatür bilgileriyle uyumlu olduğunu söyleyebiliriz.

Literatürde GEP'li hastalar dışında PT'lı kızlarda kisspeptin düzeyleri ile ilgili bir çalışma olmadığı gibi, PA'lı olgularda da plazma kisspeptin düzeyleri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız PA'lı olgularda plazma kisspeptin düzeylerinin ölçüldüğü ilk çalışmadır. Bu çalışmada PA ile kontrol grubu kisspeptin düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla 121.36 ± 17.99 pmol/L, 95.52 ± 11.54 pmol/L; $p= 0.249$)

Gerçek erken puberteli hastalarda kisspeptinin GnRH'yı aktive ettiği yani HHG aksının aktive olduğu, adrenarşta ise HHG aksının bir etkisi olmadığı bilinmektedir (4, 34). İzole prematür adrenarş olgularında kisspeptin düzeylerinin kontrollerden farklı olmaması, PA'ın GEP ile ilişkisinin olmadığını göstermektedir. Yani HHG aksının aktive olmadığı yalnız hipotalamus-hipofiz-adrenal aksının aktive olduğunu işaret etmektedir. Buda pubarşla başlayan GEP olgularının izole PA olgularından ayrımında kisspeptinin bir belirteç olarak kullanılabilirliğini akla getirmektedir. Fakat bunun daha geniş sayılı çalışmalarla desteklenmesi gerekir.

Literatür incelendiğinde PA'lı olgularda aynen PT'lı olgularda olduğu gibi plazma GAH düzeyleriyle ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Prematür adrenarş grubunda aGAH, dGAH düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük idi. Ancak bu değerler istatistiksel olarak anlamlılık göstermiyordu (sırasıyla aGAH: 25.40 ± 5.06 pg/ml, 32.64 ± 4.45 pg/ml, $p=0.290$; dGAH: 260.27 ± 51.07 pg/ml, 272.16 ± 31.98 pg/ml, $p=0.841$). Bu sonuç plazma GAH düzeyi ile PA arasında doğrudan herhangi bir ilişki bulunmadığını desteklemektedir.

Obez ve pubertal olgularda plazma GAH düzeyleri düşmektedir (5). Prematür adrenarş grubunun kilo ortalaması kontrol grubuna göre daha fazla iken, aGAH ve dGAH düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük bulunmasına, aynen obezlerde

olduğu gibi PA daki geçici somatik büyümenin de bir etkisinin olabileceğini tahmin ediyoruz.

Prematür telarş grubunda olduğu gibi PA grubunda da kisspeptin-aGAH, kisspeptin-dGAH arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Bu durum bize PA'da hem kisspeptinin etkisinin olmadığını hemde kisspeptinle GAH arasında bir ilişkinin bulunmadığını düşündürtmektedir (kisspeptin-aGAH: $p=0.978$, $r=0.007$ ve kisspeptin-dGAH: $p=0.712$, $r=0.091$). Fakat bu durumun daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla denek sayılarıyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Oldukça heterojen görünen İHH'nin moleküler temeli 1990'ların sonunda Kal-1, fibroblast büyüme faktörü, GnRH reseptör genlerindeki inaktive edici mutasyonların bildirilmesiyle açığa çıkmaya başlamıştır (67). Memeli GnRH nöronlarının kisspeptinin potansiyel hedefleri olduğu ilk defa farelerdeki GnRH nöronlarının %75'den fazlasının GPR54 mRNA ile ko-ekspresyonunu ortaya koyan double-label in situ hibridizasyon yöntemiyle gösterilmiştir (58).

İki farklı araştırma grubu tarafından, GPR54 geninde fonksiyon kaybına yol açan mutasyon ile İHH geliştiği ispat edilmiştir (75, 76). Kuzen evliliğinden meydana gelen 5 kardeşin gecikmiş pubertesine yönelik yapılan araştırmada 155. nükleotitte delesyon tespit edilmiş ve bu delesyonda Kallman sendromundan farklı olarak, GnRH nöronların olfaktör bulbustan migrasyonunda bir patolojinin bulunmadığı ortaya konulmuştur (75).

Seminara ve ark. (76) 2003 yılında başka bir ailede, L148S mutasyonunun İHH'ya neden olduğunu ispat etmişler. Semple ve ark. (143) ise GPR54 geninde C223R and R297L mutasyonunun, başka bir grup ise 1001–1002insC mutasyonunun İHH ve kriptorşidizme sebep olduğunu bulmuşlardır (144). Tenenbaum- Rakover ve ark.'da (145) 5 İHH'li hastada GPR54 geninde L102P mutasyonunu göstermişlerdir. Tüm bunlara rağmen GPR54 mutasyonu İHH olgularının sadece %2'sinde tespit edilmiştir (146).

Gonadotropin salgılayıcı hormona hipofiz cevabının korunduğu, GPR54'n kusurlu olduğu farelerde, kisspeptin-10'nun LH salgılatıcı etkilerinin tamamen ortadan kalktığı gösterilmiştir. Bu da kisspeptinin gonadotropik etkilerinin yalnızca GPR54 aracılığıyla olduğunu düşündürmektedir (6). Puberte GnRH nöronlarının aktivitesinde artma ile başlamaktadır. Ergenlikte bu süreç steroid bağımsız, steroid

bağımlı mekanizmalar ile sağlanmaktadır. Son zamanlarda KiSS/GPR54 sisteminin pubertedeki GnRH fizyolojisi ve pubertenin başlamasındaki temel rolünün anlaşılması üzerine, araştırmalar bu sistem üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar GPR54'ü aktive eden mutasyonların idiyopatik GEP'e, inaktive edici mutasyonların ise nİHH'ya neden olduğu gösterilmiştir (7).

Gecikmiş pubertenin en sık nedeni YBG'i ile bu duruma neden olan İHH ayrımı bazen zor olmaktadır. Yapısal büyüme geriliğinde BH'i eksikliği olmadığı gösterilmiştir. Patofizyoloji üzerinde en çok durulan konu gecikmiş hipofiz maturasyonudur.

Çalışmamızda GP ve kontrol grubu arasında kisspeptin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu (sırasıyla 62.80 ± 30.53 pmol/L, 125.72 ± 46.58 pmol/L, $p < 0.001$). Prematür telarşlı olgulardaki yüksek kisspeptin değerleri ile gecikmiş pubertede bulduğumuz bu düşük değerler göz önüne alındığında, kisspeptinin pubertede çok önemli bir rolü olduğunu ispat etmektedir. Bu sonucun desteklenmesi için daha fazla sayılı GP olgularını içeren çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Puberte gecikmesi olan çocuklarda, sağlıklı ve normal büyüyen çocuklara göre GAH'ın etkinliğinin daha az olduğu, bu yüzden bu çocukların iştahlarının ve günlük kalori alımlarının yetersiz kaldığı düşünülebilir. Zaten nütrisyonel boy kısalığı ve kaşeksinin GP'ye neden olması, iştah azlığına yol açan mekanizmaların ve GAH'ın etkisinin azlığını akla getirtmektedir. Wudy ve ark.'ı (147) uygun beslenememe nedeniyle yeterli kiloya ulaşamamanın, boy uzamasını olumsuz etkilediğini göstermişlerdir. İdiyopatik boy kısalığı olan 123 çocuğu günlük besin tüketimi ve enerji alımına göre değerlendiren çalışmada çocuklar yeterli ve yetersiz beslenenler diye iki gruba ayrılmış. Sonuçta idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda ciddi beslenme yetersizliği geliştiği gösterilmiştir ve bu çocukların, yeterli beslenen sağlıklı akranlarına göre daha kısa boylu ve VKİ'nin daha düşük olduğu görülmüştür (147). Çalışmamızda GP grubunda boy ve kilo kontrollerine göre daha düşüktü. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla $p < 0.001$, $p < 0.001$). Sonuç yukarıdaki literatür verileriyle benzerlik göstermektedir.

Ghrelin düzeylerinde ergenlik boyunca gözlenen azalmanın, ergenlik evresiyle doğru orantılı olarak azalmaya devam ettiği, buna seks steroidlerindeki artışın sebep olabileceği ifade edilmiştir (13).

Ege Üniversitesinde yapılan bir çalışmada 30 YBG ve GP'si olan çocuk ile 15 sağlıklı çocuğun plazma açlık ve tokluk GAH düzeyleri karşılaştırılmış (48). Yapısal büyüme geriliği ve puberte gecikmesi olan hastaların açlık GAH seviyesi 824.23 ± 523.46 pg/ml, tokluk GAH seviyesi 447.26 ± 259.92 pg/ml, kontrol grubunun açlık GAH düzeyi 687.38 ± 481.43 pg/ml, tokluk GAH düzeyi ise 365.59 ± 260.43 pg/ml olarak bulunmuştur. Sayısal değerler farklı olmasına rağmen gruplar arasında GAH düzeyleri açısından anlamlı bir fark gösterilememiştir. Yapısal büyüme geriliği ve GP'de yükselmiş GAH seviyesi yeterli kalori alımını artırmaya yönelik bir kompanzasyon olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda GP grubunun aGAH ve dGAH düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksekti (sırasıyla aGAH: 27.84 ± 3.92 pg/ml, 16.79 ± 4.44 pg/ml, $p=0.091$; dGAH 115.63 ± 18.69 pg/ml, 82.36 ± 18.82 pg/ml, $p=0.265$). Ancak her iki grup ve her iki parametre arasında istatistiksel bir fark yoktu.

Ghrelin plazma düzeylerimizin yukarıdaki çalışmaya göre daha düşük olması çalışmadaki GAH'ın farklı kitlerinin kullanılmasından kaynaklanmış olabilir (148). Fakat bulgularımız Ege Üniversitesinde yapılan çalışmayla benzerlik göstermektedir. Bu durum literatürde de kabul gördüğü gibi adaptif mekanizmaya bağlanabilir. Sonuçta GAH'ın PT, PA ve gecikmiş pubertede önemli bir etkisinin olmadığını söyleyebiliriz.

Gecikmiş puberte kisspeptin ve GAH düzeyleri arasında bir korelasyon yoktu (kisspeptin-aGAH: $p=0.079$, $r= -0.413$ ve kisspeptin-dGAH: $p=0.574$, $r= -0.138$). Bu sonuç aynen PT ve PA'dekine benzerlik göstermektedir. Dolayısıyla bu sonuca denek sayısındaki azlık yada her 2 peptit arasındaki gerçek bir ilişkinin bulunmaması sebebiyet vermiş olabilir.

Tüm bu bilgiler ışığında GAH'ın pubertede primer bir rolünün olmadığını, fakat kisspeptinin ve yolağındaki patolojilerin güncel literatürde de bahsedildiği gibi erken ve gecikmiş puberteye yol açabileceğini desteklemektedir. Olgularımızda kisspeptinin her bir grup için ortalama düzeyleri çoktan aza doğru GEP>PM>PT>PA>GP şeklindeydi. Bu durum kisspeptinin puberteyi başlattığının

iyi bir göstergesidir. Bu yolağın farmakojik modülasyonunun kalıtsal/konjenital ve akkiz reproduktif hastalıkların, gecikmiş ve erken pubertenin tedavisinde bir umut olabileceği öngörülebilir. Ayrıca kisspeptinin çocukluk çağında normal düzeyleri tespit edilebilirse pubertal hastalıkların ayırıcı tanısında bir belirteç olarak kullanabilme ihtimali ortaya çıkmıştır. Ancak bunun için daha çok sayıda ve daha geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇLAR

1. Prematür telarş olgularında kisspeptin düzeyi kontrol grubuna göre yüksekti. Buda PT’de HHG aksının aktive olduğunu göstermektedir.
2. Prematür telarş olgularında kisspeptin düzeyi ile aGAH arasında pozitif, dGAH arasında ise negatif bir korelasyon vardı. Ancak iki değer arasında istatistiksel açıdan bir fark yoktu.
3. Prematür adrenarş olgularında boy ve kilo değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.
4. Prematür adrenarş ve kontrol grubu arasında kisspeptin ve GAH düzeyleri açısından bir fark yoktu. Bu sonuç her iki peptidin PA üzerine bir etkisinin olmadığını göstermektedir.
5. Prematür adrenarş gibi başlayan GEP olgularının, izole PA olgularından ayırt edilmesinde kisspeptinin bir belirteç olarak kullanılabilme olasılığı ortaya çıkmıştır.
6. Prematür adrenarş grubunda aGAH, dGAH arasında pozitif korelasyon vardı. Fakat bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi.
7. Gecikmiş puberte de boy ve kilo kontrollere göre düşük bulundu. Bu beklenen bir sonuçtu.
8. Gecikmiş puberte grubunda kisspeptin düzeyi kontrollere göre düşüktü. Bu da aynen İHH’de olduğu gibi gecikmiş pubertede HHG aksının aktive olmadığını, bunda da kisspeptinin bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.
9. Gecikmiş puberte grubunda GAH düzeyleri kontrol grubuna göre normal olarak bulundu. Bu sonuç bu peptidin GP üzerine etkisi olmadığını göstermektedir.
10. Gecikmiş puberte grubunda kisspeptin düzeyleri ile aGAH, dGAH düzeyleri arasında negatif korelasyon vardı. Fakat her iki değer arasında istatistiksel anlamlılık bulunmadı.

5. KAYNAKLAR

1. Rogol AD, Roemmich JN, Clark PA. Growth at puberty. *J Adolesc Health* 2002; 31 (Suppl. 6): 192-200.
2. Sizonenko PC. Physiology of puberty. *J Endocrinol Invest* 1989; 12 (Suppl. 3): 59-63.
3. Wheeler MD. Physical changes of puberty. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991; 20: 1-14.
4. Lee PA, Kerrigan JR. Precocious puberty: Pescovitz OH, Eugster EA (editors). *Textbook of Pediatric Endocrinology: Mechanisms, Manifestations and Management*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 316-330.
5. Roa J, Garcia-Galiano D, Castellano JM, Gaytan F, Pinilla L, Tena-Sempere M. Metabolic control of puberty onset: new players, new mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*; 2010; 324: 87-94.
6. 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. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102: 1761-1766.
7. Roseweir AK, Millar RP. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum Reprod Update* 2009; 15: 203-212.
8. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1731-1737.
9. Lee JH, Welch DR. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, KiSS-1. *Cancer Res* 1997; 57: 2384-2387.
10. Roa J, Vigo E, Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Casanueva FF, et al. Hypothalamic expression of KiSS-1 system and

gonadotropin-releasing effects of kisspeptin in different reproductive states of the female Rat. *Endocrinology* 2006; 147: 2864-2878.

11. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
12. Kojima M, Hosoda H, Kangawa K. Purification and distribution of ghrelin: the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *Horm Res* 2001; 56 (Supp. 1): 93-97.
13. Soriano-Guillen L, Barrios V, Chowen JA, Sanchez I, Vila S, Quero J, et al. Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr* 2004; 144: 30-35.
14. Iniguez G, Ong K, Pena V, Avila A, Dunger D, Mericq V. Fasting and post-glucose ghrelin levels in SGA infants: relationships with size and weight gain at one year of age. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 5830-5833.
15. Kitamura S, Yokota I, Hosoda H, Kotani Y, Matsuda J, Naito E, et al. Ghrelin concentration in cord and neonatal blood: relation to fetal growth and energy balance. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 5473-5477.
16. Tena-Sempere M. Ghrelin and reproduction: ghrelin as novel regulator of the gonadotropic axis. *Vitam Horm* 2008; 77: 285-300.
17. Tena-Sempere M. Ghrelin as a pleiotropic modulator of gonadal function and reproduction. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 666-674.
18. Forbes S, Li XF, Kinsey-Jones J, O'Byrne K. Effects of ghrelin on Kisspeptin mRNA expression in the hypothalamic medial preoptic area and pulsatile luteinising hormone secretion in the female rat. *Neurosci Lett* 2009; 460: 143-147.

19. Bourguignon JP. Control of onset Puberty: Pescovitz OH, Eugster EA (editors). Textbook of Pediatric Endocrinology: Mechanisms, Manifestations and Management. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 285-294.
20. de Vries L, Shtaf B, Phillip M, Gat-Yablonski G. Kisspeptin serum levels in girls with central precocious puberty. Clin Endocrinol 2009; 71: 524-528.
21. Öcal G. Erken püberte. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoglu S (editors). Pediatrik Endokrinoloji. Ankara: Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Dernegi Yayınları, 2003: 155-189.
22. Öcal G. Pubertal fizyoloji. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoglu S (editors). Pediatrik Endokrinoloji. Ankara: Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Dernegi Yayınları, 2003: 137-153.
23. Delemarre-van de Waal HA. Secular trend of timing of puberty. Endocr Dev 2005; 8: 1-14.
24. Papathanasiou A, Hadjiathanasiou C. Precocious puberty. Pediatr Endocrinol Rev 2006; 3 (Suppl. 1): 182-187.
25. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. Horm Res 2002; 57 (Suppl. 2): 2-14.
26. Diamantopoulos S, Bao Y. Gynecomastia and premature thelarche: a guide for practitioners. Pediatr Rev 2007; 28: 57-68.
27. Greydanus DE, Matytsina L, Gains M. Breast disorders in children and adolescents. Prim Care 2006; 33: 455-502.
28. Nebesio TD, Eugster EA. Current concepts in normal and abnormal puberty. Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care 2007; 37: 50-72.
29. Su PH, Wang SL, Chen JY, Chen SJ, Ke JC. A study of anthropomorphic and biochemical characteristics in girls with central precocious puberty and thelarche variant. J Pediatr Endocrinol Metab 2008; 21: 213-220.

30. Hatipoğlu N, Kurtoğlu S, Bykkayhan D. Yenidoğan kız çocuklarında jinekolojik problemler. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci (Yenidoğanın Endokrin Problemleri zel Sayısı) 2008; 4: 77-89.
31. Pasquino AM, Pucarelli I, Passeri F, Segni M, Mancini MA, Municchi G. Progression of premature thelarche to central precocious puberty. J Pediatr 1995; 126: 11-14.
32. Wemeau-Jacquemont C. Precocious puberty and ovarian follicular cysts. Pediatrie 1988; 43: 355-360.
33. Ibanez L, Virdis R, Potau N, Zampolli M, Ghizzoni L, Albisu MA, et al. Natural history of premature pubarche: an auxological study. J Clin Endocrinol Metab 1992; 74: 254-257.
34. Saenger P, Reiter EO. Premature adrenarche: a normal variant of puberty? J Clin Endocrinol Metab 1992; 74: 236-238.
35. Grimberg A, Kutikov JK, Cucchiara AJ. Sex differences in patients referred for evaluation of poor growth. J Pediatr 2005; 146: 212-216.
36. Sedlmeyer IL, Palmert MR. Delayed puberty: analysis of a large case series from an academic center. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 1613-1620.
37. Bykgebiz A, Bber E. Gecikmiş puberte ve diğer pubertal sorunlar. Gnz H, cal G, Yordam N, Kurtoglu S (editors). Pediatrik Endokrinoloji. Ankara: Pediatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Dernegi Yayınları, 2003: 189-213.
38. Gourmelen M, Pham-Huu-Trung MT, Girard F. Transient partial hGH deficiency in prepubertal children with delay of growth. Pediatr Res 1979; 13: 221-224.
39. Kastrup KW, Andersen H, Eskildsen PC, Jacobsen BB, Krabbe S, Petersen KE. Combined test of hypothalamic-pituitary function in growth retarded children treated with growth hormone. I. Secretion of growth hormone and

somatomedin before and after treatment. *Acta Paediatr Scand Suppl.* 1979; 277: 8-13.

40. Clayton PE, Shalet SM, Price DA. Endocrine manipulation of constitutional delay in growth and puberty. *J Endocrinol* 1988; 116: 321-323.
41. Styne DM. Puberty and its disorders in boys. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991; 20: 43-69.
42. Bierich JR. Constitutional delay of growth and adolescence. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1992; 6: 573-588.
43. Pozo J, Argente J, Barrios V, Gonzalez-Parra S, Munoz MT, Hernandez H. Growth hormone secretion in children with normal variants of short stature. *Horm Res* 1994; 41: 185-192.
44. Abdenur JE, Pugliese MT, Cervantes C, Fort P, Lifshitz F. Alterations in spontaneous growth hormone (GH) secretion and the response to GH-releasing hormone in children with nonorganic nutritional dwarfing. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 930-934.
45. Galler JR, Ramsey F, Solimano G. A follow-up study of the effects of early malnutrition on subsequent development. I. Physical growth and sexual maturation during adolescence. *Pediatr Res* 1985; 19: 518-523.
46. Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology* 1997; 138: 855-858.
47. Günöz H. Gonadlar ve Hastalıkları: Neyzi O, Ertuğrul T (editors). *Pediyatri*. 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2010: 1591-1624.
48. Şen TA. Yapısal Büyüme ve Puberte Gecikmesi Olan Çocuklarda Ghrelin Düzeyleri. Uzmanlık Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2009.

49. Darendeliler F. Gelişme-Olgunlaşma: Neyzi O, Ertuğrul T (editors). *Pediyatri*.4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2010: 123-135.
50. Terasawa E, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev* 2001; 22: 111-151.
51. Herbison AE. Genetics of puberty. *Horm Res* 2007; 68: 75-79.
52. Ebling FJ. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction* 2005; 129: 675-683.
53. 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: 613-617.
54. Kotani M, Detheux M, Vandenberghe A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001; 276: 34631-34636.
55. Kuohung W, Kaiser UB. GPR54 and KiSS-1: role in the regulation of puberty and reproduction. *Rev Endocr Metab Disord* 2006; 7: 257-263.
56. Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci* 2005; 25: 11349-11356.
57. Colledge WH. GPR54 and puberty. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 448-453.
58. Tena-Sempere M. GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Hum Reprod Update* 2006; 12: 631-639.
59. Hofmann HA. Gonadotropin-releasing hormone signaling in behavioral plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16: 343-350.

60. Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci* 2004; 117: 1319-1328.
61. Dun SL, Brailoiu GC, Parsons A, Yang J, Zeng Q, Chen X, et al. Metastin-like immunoreactivity in the rat medulla oblongata and spinal cord. *Neurosci Lett* 2003; 335: 197-201.
62. Dungan HM, Clifton DK, Steiner RA. Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 2006; 147: 1154-1158.
63. Castellano JM, Gaytan M, Roa J, Vigo E, Navarro VM, Bellido C, et al. Expression of KiSS-1 in rat ovary: putative local regulator of ovulation? *Endocrinology* 2006; 147: 4852-4862.
64. Colledge WH. Kisspeptins and GnRH neuronal signalling. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20: 115-121.
65. Castano JP, Martinez-Fuentes AJ, Gutierrez-Pascual E, Vaudry H, Tena-Sempere M, Malagon MM. Intracellular signaling pathways activated by kisspeptins through GPR54: do multiple signals underlie function diversity? *Peptides* 2009; 30: 10-15.
66. 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: 4073-4077.
67. Seminara SB. Metastin and its G protein-coupled receptor, GPR54: critical pathway modulating GnRH secretion. *Front Neuroendocrinol* 2005; 26: 131-138.
68. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Nogueiras R, Tovar S, Roa J, et al. Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of

pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology* 2005; 146: 3917-3925.

69. Gianetti E, Seminara S. Kisspeptin and KISS1R: a critical pathway in the reproductive system. *Reproduction* 2008; 136: 295-301.
70. Hauge-Evans AC, Richardson CC, Milne HM, Christie MR, Persaud SJ, Jones PM. A role for kisspeptin in islet function. *Diabetologia* 2006; 49: 2131-2135.
71. Smith JT, Acohido BV, Clifton DK, Steiner RA. KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. *J Neuroendocrinol* 2006; 18: 298-303.
72. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102: 2129-2134.
73. Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Castellano JM, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, et al. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KiSS-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol* 2004; 561: 379-386.
74. Kaiser UB, Kuohung W. KiSS-1 and GPR54 as new players in gonadotropin regulation and puberty. *Endocrine* 2005; 26: 277-284.
75. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci* 2003; 100: 10972-10976.
76. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS, Jr., Shagoury JK, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003; 349: 1614-1627.
77. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, et al. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. *N Engl J Med* 2008; 358: 709-715.

78. Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, et al. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nat Genet* 2009; 41: 354-358.
79. Topaloglu AK, Kotan LD, Yuksel B. Neurokinin B signalling in human puberty. *J Neuroendocrinol* 2010; 22: 765-770.
80. Korbonits M, Goldstone AP, Gueorguiev M, Grossman AB. Ghrelin-a hormone with multiple functions. *Front Neuroendocrinol* 2004; 25: 27-68.
81. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85: 495-522.
82. Aydin S, Ozkan Y, Caylak E, Aydin S. Ghrelin and its biochemical functions. *Turkiye Klinikleri. J Med Sci* 2006; 26: 272-283.
83. Soares JB, Leite-Moreira AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008; 29: 1255-1270.
84. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
85. Tang SQ, Jiang QY, Zhang YL, Zhu XT, Shu G, Gao P, et al. Obestatin: its physicochemical characteristics and physiological functions. *Peptides* 2008; 29: 639-645.
86. Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T, et al. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4753-4758.

87. Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 279: 909-913.
88. Ariyasu H, Takaya K, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Arai Y, et al. Transgenic mice overexpressing des-acyl ghrelin show small phenotype. *Endocrinology* 2005; 146: 355-364.
89. Hosoda H, Doi K, Nagaya N, Okumura H, Nakagawa E, Enomoto M, et al. Optimum collection and storage conditions for ghrelin measurements: octanoyl modification of ghrelin is rapidly hydrolyzed to desacyl ghrelin in blood samples. *Clin Chem* 2004; 50: 1077-1080.
90. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988.
91. Iglesias MJ, Salgado A, Pineiro R, Rodino BK, Otero MF, Grigorian L, et al. Lack of effect of the ghrelin gene-derived peptide obestatin on cardiomyocyte viability and metabolism. *J Endocrinol Invest* 2007; 30: 470-476.
92. Burdyga G, Varro A, Dimaline R, Thompson DG, Dockray GJ. Ghrelin receptors in rat and human nodose ganglia: putative role in regulating CB-1 and MCH receptor abundance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: 1289-1297.
93. Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 2007; 12: 276-288.
94. Chanoine JP, Wong AC, Barrios V. Obestatin, acylated and total ghrelin concentrations in the perinatal rat pancreas. *Horm Res* 2006; 66: 81-88.
95. Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonisconi S, Fubini A, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and

endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 2002; 159: 1029-1037.

96. Filigheddu N, Gnocchi VF, Coscia M, Cappelli M, Porporato PE, Taulli R, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin promote differentiation and fusion of C2C12 skeletal muscle cells. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 986-994.
97. Aydın S. Ghrelin Hormonunun Keşfi: Araştırmaları ve Klinik Uygulamaları. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32; 76–89.
98. Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K, et al. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275: 477-480.
99. Arvat E, Di Vito L, Broglio F, Papotti M, Muccioli G, Dieguez C, et al. Preliminary evidence that Ghrelin, the natural GH secretagogue (GHS)-receptor ligand, strongly stimulates GH secretion in humans. *J Endocrinol Invest* 2000; 23: 493-495.
100. Peino R, Baldelli R, Rodriguez-Garcia J, Rodriguez-Segade S, Kojima M, Kangawa K, et al. Ghrelin-induced growth hormone secretion in humans. *Eur J Endocrinol* 2000; 143: 11-14.
101. Whatmore AJ, Hall CM, Jones J, Westwood M, Clayton PE. Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin Endocrinol* 2003; 59: 649-654.
102. Maffei C, Franceschi R, Moghetti P, Camilot M, Lauriola S, Tato L. Circulating ghrelin levels in girls with central precocious puberty are reduced during treatment with LHRH analog. *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 99-103.
103. Lebenthal Y, Gat-Yablonski G, Shtaf B, Padoa A, Phillip M, Lazar L. Effect of sex hormone administration on circulating ghrelin levels in peripubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 328-331.
104. Yılmaz B. Kisspeptin. *Neuroanatomy* 2006; 5: 1-44

105. Seminara SB. Mechanisms of Disease: the first kiss-a crucial role for kisspeptin-1 and its receptor, G-protein-coupled receptor 54, in puberty and reproduction. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2: 328-334.
106. Fernandez-Fernandez R, Martini AC, Navarro VM, Castellano JM, Dieguez C, Aguilar E, et al. Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 254-255: 127-132.
107. Marshall WA, Tanner JM. Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44: 291-303.
108. Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970; 45: 13-23.
109. Reiter EO, Rosenfeld RG. Normal and aberrant growth: Larsen PR, Kronenberg HM, Memed S, Polonsky KS (editors.) *Williams Textbook of Endocrinology* 10th ed. Philadelphia, PA: Saunders 2002: 1003-1114.
110. Teilmann G, Pedersen CB, Jensen TK, Skakkebaek NE, Juul A. Prevalence and incidence of precocious pubertal development in Denmark: an epidemiologic study based on national registries. *Pediatrics* 2005; 116: 1323-1328.
111. Bridges NA, Christopher JA, Hindmarsh PC, Brook CG. Sexual precocity: sex incidence and aetiology. *Arch Dis Child* 1994; 70: 116-118.
112. Marti-Henneberg C, Vizmanos B. The duration of puberty in girls is related to the timing of its onset. *J Pediatr* 1997; 131: 618-621.
113. de Muinich Keizer SM, Mul D. Trends in pubertal development in Europe. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 287-291.
114. Karlberg J. Secular trends in pubertal development. *Horm Res* 2002; 57 (Suppl 2): 19-30.

115. Mauras N, George D, Evans J, Milov D, Abrams S, Rini A, et al. Growth hormone has anabolic effects in glucocorticosteroid-dependent children with inflammatory bowel disease: a pilot study. *Metabolism* 2002; 51: 127-135.
116. Bellone S, Rapa A, Vivenza D, Castellino N, Petri A, Bellone J, et al. Circulating ghrelin levels as function of gender, pubertal status and adiposity in childhood. *J Endocrinol Invest* 2002; 25: 13-15.
117. Styne DM. Puberty, obesity and ethnicity. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15: 472-478.
118. Apter D, Butzow TL, Laughlin GA, Yen SS. Gonadotropin-releasing hormone pulse generator activity during pubertal transition in girls: pulsatile and diurnal patterns of circulating gonadotropins. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 940-949.
119. Wu FC, Butler GE, Kelnar CJ, Huhtaniemi I, Veldhuis JD. Ontogeny of pulsatile gonadotropin releasing hormone secretion from midchildhood, through puberty, to adulthood in the human male: a study using deconvolution analysis and an ultrasensitive immunofluorometric assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1798-1805.
120. Verrotti A, Ferrari M, Morgese G, Chiarelli F. Premature thelarche: a long-term follow-up. *Gynecol Endocrinol* 1996; 10: 241-247.
121. Teilmann G, Juul A, Skakkebaek NE, Toppari J. Putative effects of endocrine disrupters on pubertal development in the human. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2002; 16: 105-121.
122. Leger J, Reynaud R, Czernichow P. Do all girls with apparent idiopathic precocious puberty require gonadotropin-releasing hormone agonist treatment? *J Pediatr* 2000; 137: 819-825.

123. Palmert MR, Malin HV, Boepple PA. Unsustained or slowly progressive puberty in young girls: initial presentation and long-term follow-up of 20 untreated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 415-423.
124. Fontoura M, Brauner R, Prevot C, Rappaport R. Precocious puberty in girls: early diagnosis of a slowly progressing variant. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1170-1176.
125. Klein KO. Precocious puberty: who has it? Who should be treated? *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 411-414.
126. 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: 4605-4614.
127. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6609-6615.
128. Tschop M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes* 2001; 50: 707-709.
129. Krzyzanowska-Swiniarska B, Kempa A, Robaczyk M. Preproghrelin gene, ghrelin receptor and metabolic syndrome. *Przegl Lek* 2005; 62: 230-233.
130. Krsek M, Rosicka M, Papezova H, Krizova J, Kotrlíkova E, Haluzík M, et al. Plasma ghrelin levels and malnutrition: a comparison of two etiologies. *Eat Weight Disord* 2003; 8: 207-211.
131. Kojima S, Nakahara T, Nagai N, Muranaga T, Tanaka M, Yasuhara D, et al. Altered ghrelin and peptide YY responses to meals in bulimia nervosa. *Clin Endocrinol* 2005; 62: 74-78.
132. He Q, Karlberg J. Bmi in childhood and its association with height gain, timing of puberty, and final height. *Pediatr Res* 2001; 49: 244-251.

133. Zhu H, Chen LQ, Jiang YJ, Liang L. Relationship of plasma ghrelin and adenohipophyseal hormone levels in female precocious puberty. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2008; 37: 506-510.
134. Cinaz P, Yeşilkaya E, Kaya A. Obez çocuklarda plazma ghrelin, Serum IGF-1 ve IGFBP-3 Düzeyleri. *J Ist Faculty Med* 2009; 72: 47-51.
135. Jurimae J, Cicchella A, Tillmann V, Latt E, Haljaste K, Purge P, et al. Effect of pubertal development and physical activity on plasma ghrelin concentration in boys. *J Endocrinol Invest* 2009; 32: 18-22.
136. Marzullo P, Verti B, Savia G, Walker GE, Guzzaloni G, Tagliaferri M, et al. The relationship between active ghrelin levels and human obesity involves alterations in resting energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 936-939.
137. Ariyasu H, Takaya K, Hosoda H, Iwakura H, Ebihara K, Mori K, et al. Delayed short-term secretory regulation of ghrelin in obese animals: evidenced by a specific RIA for the active form of ghrelin. *Endocrinology* 2002; 143: 3341-3350.
138. Ibanez L, Dimartino-Nardi J, Potau N, Saenger P. Premature adrenarche-normal variant or forerunner of adult disease? *Endocr Rev* 2000; 21: 671-696.
139. Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdony CJ, Bhapkar MV, Koch GG, et al. Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practice: a study from the Pediatric Research in Office Settings network. *Pediatrics* 1997; 99: 505-512.
140. Rosenfield RL. Puberty and its disorders in girls. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1991; 20: 15-42.
141. Lee PA, Guo SS, Kulin HE. Age of puberty: data from the United States of America. *Apmis* 2001; 109: 81-88.

142. Sklar CA, Kaplan SL, Grumbach MM. Evidence for dissociation between adrenarche and gonadarche: studies in patients with idiopathic precocious puberty, gonadal dysgenesis, isolated gonadotropin deficiency, and constitutionally delayed growth and adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 548-556.
143. Semple RK, Achermann JC, Ellery J, Farooqi IS, Karet FE, Stanhope RG, et al. Two novel missense mutations in g protein-coupled receptor 54 in a patient with hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1849-1855.
144. Lanfranco F, Gromoll J, von Eckardstein S, Herding EM, Nieschlag E, Simoni M. Role of sequence variations of the GnRH receptor and G protein-coupled receptor 54 gene in male idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Eur J Endocrinol* 2005; 153: 845-852.
145. Tenenbaum-Rakover Y, Commenges-Ducos M, Iovane A, Aumas C, Admoni O, de Roux N. Neuroendocrine phenotype analysis in five patients with isolated hypogonadotropic hypogonadism due to a L102P inactivating mutation of GPR54. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1137-1144.
146. Pedersen-White JR, Chorich LP, Bick DP, Sherins RJ, Layman LC. The prevalence of intragenic deletions in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism and Kallmann syndrome. *Mol Hum Reprod* 2008; 14: 367-370.
147. Wudy SA, Hagemann S, Dempfle A, Ringler G, Blum WF, Berthold LD, et al. Children with idiopathic short stature are poor eaters and have decreased body mass index. *Pediatrics* 2005; 116: 52-57.
148. Groschl M, Uhr M, Kraus T. Evaluation of the comparability of commercial ghrelin assays. *Clin Chem* 2004; 50: 457-458.

6. EKLER

EK-A: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (HASTA GRUBU İÇİN)

Puberte Bozuklukları (ergenlik bozuklukları) ile ilgili bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi 'Puberte Bozukluklarında (Prematür Telarş, Adrenarş, Menarş, Puberte Prekoks, Geçikmiş Puberte) Plazma Kisspeptin ve Grelın Düzeyinin Araştırılması'dır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakla serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizın sebebi, kisspeptin adlı yeni bir proteinin ergenlik ve üreme hormonlarının düzenlenmesinde önemli bir role sahip olabileceği belirlenmiştir. Ergenlik bozukluğu (erken telarş, erken adrenarş, erken menarş, gecikmiş ve erken ergenliğin gibi düzensizliklerin) olan hastalarda kisspeptin ve grelin düzeyine bakılacak ve arasındaki ilişki ortaya konacaktır. Eğer araştırmayı kabul ederseniz, Doç. Dr. Yaşar Şen, Dr. Erdal Kurnaz veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından kan numuneleri alınacaktır. Kilonuz, kan basıncınız, yaşınız, fizik muayene bulgularınız ve öz geçmişiniz kaydedilecektir. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden, sadece tıp öğrencilerinin, ebelik, hemşirelik, sağlık memurluğu öğrencilerinin eğitimlerinde veya bilimsel nitelikteki yayınlarda kullanılabilir, asla başkalarına verilmeyecektir. Bu çalışmayı yapabilmemiz için ergenlik bozukluğu tanısı konulduğu zaman koldan 3 ml kan almamız gerekmektedir. Alınan kandan kisspeptin ve grelin adı verilen hormonların düzeylerine bakılacaktır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecek ve aynı zamanda size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler arasında iğne batmasına bağlı az bir acı duyma ve çok az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski yer almaktadır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir araştırmada görülebilecek risklerdendir. Ancak bunlardan en az zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyn/sorumlusuna iletilmektedir.

Ölçülecek parametrelerin getireceği yararlardan en önemlisi; ergenlik bozukluğu ile kisperin ve grelin arasında bir ilişkinin bulunup bulunmadığının tespit edilmesidir. Şu anda bu çalışmanın hemen size ve çocuğunuza faydalı olup olmadığını bilmiyoruz. Ancak çalışma sonucunda ulaşılabacak bulgular bu hastalığın oluşmadan önce tespitinde veya tedavisinde yeni açılımlar sağlayabilir.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekme hakkına da sahiptir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dr. Erdal KURNAZ ve Doç. Dr. Yaşar ŞEN tarafından (Fırat Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı) yürütülen bir araştırmada bulunduğunu ifade ederek, bu araştırmalarla ilgili gerekli bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya bilgilendirilerek "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin büyük bir gizlilikle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, isterse dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Erdal KURNAZ'ı 0535 295 58 97 den arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılım konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı:

Adı- Soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı:

Adı- Soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim:

Adı- Soyadı, ünvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

EK-B: BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (KONTROL GRUBU İÇİN)

Puberte Bozuklukları (ergenlik bozuklukları) erken göğüs büyümesi, erken tüylenme, erken adet görme şeklinde olabileceği gibi bunların zamanında ortaya çıkmamasına bağlı olarak gecikme şeklinde de karşımıza çıkabilmektedir. Tamamen sağlıklı görünen bir çocukta ileriki yıllarda pubertal bozukluk gelişme riski vardır. Bu riskde rol oynayan hormonlardan Kisleptin ve Grelin son birkaç yılda keşfedilmiştir ve sağlıklı çocuklarda pre ve pubertal normal düzeyleri bilinmemektedir. Bu hormonların (Kisleptin ve Grelin) sağlıklı görünen çocuklarda düzeylerine bakmak istiyoruz. Bu düzeylerin bilinmesiyle ergenlik bozukluklarının ortaya çıkmadan erken dönemde tanı ve tedavi mümkün olabilecektir.

Sizde hastanemize rutin muayene ve tarama amacıyla başvurmuş bulunmaktasınız. Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakla serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Eğer araştırmayı kabul ederseniz, Doç. Dr. Yaşar Şen, Dr. Erdal Kurnaz veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından kan numuneleri alınacaktır. Kilonuz, kan basıncınız, yaşıınız, fizik muayene ve öz geçmişiniz kaydedilecektir. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden, sadece tıp öğrencilerinin, ebelik, hemşirelik, sağlık memurluğu öğrencilerinin eğitimlerinde veya bilimsel nitelikteki yayınlarda kullanılabilir, asla başkalarına verilmeyecektir. Size ek hiçbir girişim yapılmadan rutin tetkik amacıyla damar yolundan alınacak kanlarınıza ilaveten sizin rızanızla 3 cc kan alınacaktır. Sizden alınan kan örneğinden kisleptin ve grelin adlı iki hormon düzeyine bakılacaktır. Rutin kan alma işlemi sırasında ilave kan alınması dışında gönüllü sağlığı üzerine öngörülebilir ciddi bir risk bulunmamaktadır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret talep edilmeyecek ve aynı zamanda size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir araştırmada görülebilecek risklerdendir. Ancak bunlardan en az zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyn/sorumlusuna iletilmektedir.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekme hakkına da sahiptir.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dr. Erdal KURNAZ ve Doç. Dr. Yaşar ŞEN tarafından (Fırat Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı) yürütülen tıbbi bir araştırmada bulunduğu ifade edilerek bu araştırmalarla ilgili gerekli bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya bilgilendirilerek "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin büyük bir gizlilikle korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, isterse dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Erdal KURNAZ'ı 0535 295 58 97 den arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılım konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı

reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı:

Adı- Soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Görüşme tanığı:

Adı- Soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim:

Adı- Soyadı, ünvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

7. ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Malatya ili Darende ilçesinde doğdum. İlk ve orta eğitimimi Malatyada, lise eğitimimi Elbistan'da tamamladım. 1998 yılında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde eğitimime başladım ve 2004 yılında mezun oldum. 2005 yılında Tıpta Uzmanlık Sınavını kazanarak 2005 yılı Eylül ayında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında uzmanlık eğitimime başladım. Halen eğitimime devam etmekteyim.