



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA

CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**SERUM KİSSPEPTİN DÜZEYLERİ AÇISINDAN ERKEN OVER
YETMEZLİĞİ OLGULARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Burçin KARAKUŞ

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Hasan Hakan SEYİSOĞLU

İSTANBUL - 2019

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakóltesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda aldığım uzmanlık eğitimi sırasında bilgi ve tecrübelerini bizimle paylaşan, klinik ve cerrahi eğitimin yanında etik değerleri gözeten iyi birer hekim olmamızı sağlayan başta tez hocam Prof. Dr. Hakan Hasan Seyisoğlu ve bulunduğum süre içerisinde kliniğimizde anabilim dalı başkanlığı yapmış olan Prof. Dr. Semih Kaleli, Prof. Dr. Altay Gezer, Prof. Dr. İsmail Fahri Öçer olmak üzere tüm saygıdeğer hocalarıma,

Bu süreçte klinik ve cerrahi deneyimlerini sabırla, yorulmadan aktaran uzmanlarıma, birlikte çalıştığım tüm hekim arkadaşlarıma, bütün hastane çalışanlarına,

Hep yanımda olan, tüm kararlarımda beni destekleyen güzel aileme sevgi ve saygılarımı sunarak teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	16
4. BULGULAR.....	19
5. TARTIŞMA.....	26
6. SONUÇ.....	29
7. KAYNAKLAR.....	30

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Erken over yetmezliği olguları ile kontrol grubu arasındaki demografik özellikler.....	20
Tablo 2.	Erken over yetmezliği olguları ile kontrol grubu arasındaki hormonal parametrelerin karşılaştırılması.....	22
Tablo 3.	Kisspeptin ile diğer hormonal parametreler ve demografik özellikler arasında korelasyon analizi.....	24



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Prematür over yetmezliği hastalarının etiyojileri (West London Menopause and PMS Centre, London, UK).....	8
Şekil 2. Kisspeptinlerin Oluşumu.....	10
Şekil 3. Santral sinir sistemindeki Kisspeptin diyagramı	15
Şekil 4. Serum kisspeptin seviyelerinin Kontrol ve POY grupları arasındaki farkın gösterildiği Box Plot grafik.....	23
Şekil 5. Serum kisspeptin ve AMH arasındaki korelasyonu gösteren grafik.....	25

KISALTMALAR LİSTESİ

POY: Prematür Over Yetmezliği

FSH: Folikül Stimulan Hormon

LH: Luteinizan Hormon

AMH: Anti-Müllerian Hormon

TSH: Tiroid Stimulan Hormon

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

POI: Premature Ovarian Insufficiency

BMI: Body Mass Index

HHG: Hipotalamus-Hipofiz-Gonad

ESHRE: 'European Society for Human Reproduction and Embryology' (İnsan Üremesi ve Embriyolojisi Avrupa Topluluğu)

HIV: Human Immundeficiency Virus

GPR: G Protein ilişkili Reseptör

GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

ARC: Arkuat Nükleus

AVPV: Antero-Ventrikül Periventriküler Nükleus

Dyn: Dynorphin

ELISA: Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

NKB: Nörokinin-B

İHH: İdiyopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm

MMP: Matriks Metalloproteinaz

POA: Preoptik Alan

TAC: Tachykinin



ÖZET

Amaç: Erken over yetmezliği, literatürde daha çok kullanılan adıyla, prematür over yetmezliği (POY) 40 yaşından önce hipergonadotropik hipogonadizm durumunun oluşmasıdır. POY üreme çağındaki kadınların yaklaşık %1' ini etkilemesine rağmen halen etiyojisi tam olarak bilinmemektedir. Kisspeptinler, puberteyi tetikleyen ve ovulasyonun düzenlenmesinde rol aldığı düşünülen, reproduktif endokrin sistem başta olmak üzere birçok endokrin sistemde rol alan peptidler ailesidir. Bu çalışmada, POY olan hastalarda kisspeptin düzeyinin normal popülasyon ile karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, endokrin ve jinekoloji polikliniğe başvuran 45 POY tanısı almış hasta ve kontrol grubunu oluşturmak üzere 45 sağlıklı ve düzenli adet gören kadın çalışmaya alındı. Serum örnekleri -80°C 'de saklandı. Tüm hastaların demografik bulguları, FSH, LH, AMH, Prolaktin, Estradiol, TSH, vücut kitle indeksleri ölçüldü. Serum kisspeptin değerleri belirlendi. Sonuçların istatistiksel analizi, SPSS Version 21 programında yapıldı.

Bulgular: Her iki grup arasında boy, kilo ve VKİ' leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Demografik özelliklerden, sistemik hastalık ve ailede erken menopoz hikayesi POY hastalarında belirgin olarak daha yüksek oranda görüldü. FSH ve LH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde POY olgularında kontrol grubuna göre daha yüksek, Estradiol ve AMH seviyeleri daha düşük bulunmuş olup, TSH seviyelerinde ise anlamlı bir fark izlenmemiştir. Serum kisspeptin düzeyleri POY olgularında ortanca değeri 0,86 (0,13-2,97) ng/L olarak bulunurken, kontrol grubunda bu değer istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu 1,56 (0,41-2,99) ng/L ($p=0.038$). Yaş ile kisspeptin düzeyleri arasında negatif yönde bir korelasyon bulunurken ($r=-0,267$, $p=0,011$), AMH ile kisspeptin arasında pozitif yönde bir korelasyon bulundu ($r=0,221$, $p=0,036$). Diğer parametreler ile kisspeptin düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi.

Sonuç: POY hastalarında kisspeptin seviyelerinin sağlıklı kadınlardan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az olduğunu ulaşılabilen literatürde ilk kez göstermiş olduk. AMH ve yaş ile korelasyon bulduğumuz kisspeptin düzeylerinin, over fonksiyonlarının azalması ile birlikte over kaynaklı kisspeptin sekresyonunun azalmasından dolayı olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Erken over yetmezliği, Prematür over yetmezliği, Kisspeptin



ABSTRACT

Aim: Premature ovarian insufficiency (POI) is defined as the development of hypergonadotropic hypogonadism before the age of 40 years. Although POI affects about 1% of women in reproductive age, the etiology is still unknown for most cases. Kisspeptins are a family of peptides that are involved in many endocrine systems, especially reproductive endocrine systems, which trigger puberty and are thought to play a role in regulating ovulation. In this study, we aimed to compare serum kisspeptin levels between POI and healthy women.

Material and Methods: In Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Obstetrics and Gynecology, Istanbul University, 45 women diagnosed with POI and 45 healthy regular menstruating women to form the control group were included in the study. Serum samples were stored at -80 ° C. Demographic findings and FSH, LH, AMH, Estradiol, TSH and Prolactin levels and body mass index (BMI) were determined in all women. Serum kisspeptin levels were measured. Statistical analysis of results was done in SPSS program Version 21.

Results: There was no significant difference in terms of height, weight and BMI between POI and control women. The ratio of systemic diseases and early menopause in the family were higher in POI group than control group. Women with POI had lower FSH and LH levels and higher Estradiol and AMH levels than control group. There was no significant difference in term of TSH levels between groups. The median Kisspeptin level of POI was lower than control [0.86 (0.13-2.97) vs 1.56 (0.41-2.99) ng/L, $p=0.038$, respectively]. Serum Kisspeptin concentrations were significantly negatively correlated with age ($r=-0.267$, $p=0.011$) and significantly positively correlated with AMH levels ($r=0.221$, $p=0.036$). The other parameters did not correlate with serum Kisspeptin level.

Conclusion: We have shown for the first time in the literature that Kisspeptin levels in POI patients are statistically significantly lower than in healthy women. The levels of Kisspeptin that we found correlated with AMH and age, we suggest that diminished level of Kisspeptin may be due to decreased secretion of ovarian Kisspeptin with reduction of ovary functions.

Key Words: Premature ovarian insufficiency, Kisspeptin

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Erken over yetmezliği, literatürde daha çok kullanılan adıyla, prematür over yetmezliği (POY) 40 yaşından önce hipergonadotropik hipogonadizm durumunun oluşmasıdır. Menopoza benzer semptomlarla karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu hastalar sadece östrojen eksikliğine bağlı semptomlar ve vasomotor semptomlar değil yaşam kalitelerini etkileyen infertilite ve psikolojik problemler de yaşayabilirler. Bu sendroma ayrıca erken menopoz yada primer over yetmezliği de denilmektedir. POY üreme çağındaki kadınların yaklaşık %1' ini etkilemesine rağmen halen etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. POY, overde oositlerin tükenmesi, azalmış östrojen üretimi, folikülogenezisin olmayışı ve infertilite ile karakterizedir.

Kisspeptinler, Kiss-1 isimli genden transkribe edilen öncül proteinden türeyen, Hipotalamus-Hipofiz-Gonad (HHG) aksını etkileyerek puberteyi tetikleyen ve ovulasyonun düzenlenmesinde ve fertilitede önemli rolleri oldukları düşünölen peptidler olarak bilinmektedirler. Çalışmamızın amacı, prematür over yetmezliği olan hastalarda kisspeptin düzeyinin normal popölasyon ile karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. POY

2.1.1. TANIM

Prematür over yetmezliği (POY), 40 yaşından önce hipergonadotropik hipogonadizm durumunun oluşmasıdır [1]. Menopoza benzer semptomlarla karşımıza çıkmaktadır. Ancak bu hastalar sadece östrojen eksikliğine bağlı semptomlar ve vasomotor semptomlar değil yaşam kalitelerini etkileyen infertilite ve psikolojik problemler de yaşayabilirler [2]. Bu sendroma ayrıca erken menopoz yada primer over yetmezliğide denilmektedir. Premature over yetmezliği üreme çağındaki kadınların yaklaşık %1' ini etkilemesine rağmen halen etiyojisi tam olarak bilinmemektedir [3]. POY, oositlerin tükenmesi, overde östrojen üretimi ve folikülogenezisin olmayışı ve infertilite ile karakterizedir.

POY nedenleri arasında Turner sendromu, Fragile X sendromu premutasyon taşıyıcıları, belirli ilaçlara ve radyasyona maruz kalma ve otoimmün hastalıklar olmasına rağmen hala %75-90 hastanın etiyojisi tam olarak bilinmemektedir [1].

2.1.2. PREVALANS

POY prevalansını gösteren güncel çalışmalar bulunmamaktadır. Coulam ve arkadaşlarının yaşa spesifik POY görülme insidansının amaçlandığı kohort çalışmasında 40 yaş altı doğal menopoza giren populasyon %1 oranında bulunmuştur [4]. Krailo ve arkadaşları USA'da POY prevalansını buna yakın oranda bulmuştur (menopoz prevalansı 39-40 yaş 0,012) [5].

40-44 yaşları arasındaki erken menopoz oranı POY prevalansından yaklaşık 10 kat fazladır [4].

Doğal menopoz yaşını etkileyen faktörler:

İrk: Luborsky Amerika'da POY prevalansının afro-amerikan ve hispaniklerde; kafkaslar, çinliler ve japonlara göre daha yüksek olduğunu buldu [6]. Yakın zamanda ki bir çalışma POY prevalansının %2.8'ini Çinli kadınların oluşturduğunu gösterdi [7].

Yaşam Tarzı: Sigara kullanımı erken menopoz için iyi tanımlanmış bir risk faktörüdür [8-10]. Aksi kanıtlar olsada düzenli yapılan ağır egzersizin ertelenmiş menopoza neden olduğu gösteriliyor [11-13]. Obezlerde obez olmayanlara göre menopoz yaşı daha geç; ancak Aydın ve arkadaşlarının çalışmasında vücut kitle indeksinden daha çok menopoz öncesi ciddi kilo alma ve vermelerin geç menopoz yaşıyla ilişkili olduğu gösteriliyor [11, 14].

Sosyo-ekonomik faktörler: Yüksek sosyo-ekonomik düzeyin geç menopoz yaşıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [15]. Başka çalışmalar da IQ'nun menopoz yaşında güçlü bir belirleyici olduğunu; düşük kognitif skorlu kadınların yüksek kognitif skorlu kadınlara göre menopoza daha erken yaşta girdiğini göstermiştir [16, 17].

Menarş: Menarş yaşı ve menopoz yaşı arasında bağlantı gösterilmemiştir [15, 18].

2.1.3. SEMPTOM

POY'lu hastalar tipik menopoz kliniği gösterebilir, bazen de menstrüel siklus değişiklikleri ile prezente olurlar. Sıcak basmaları ve gece terlemeleri östrojen eksikliği ile karakterizedir [19]. Disparoni, kuruluk gibi vajinal semptomlar bu hastalar için çok stress verici olabilir [20]. Diğer semptomlar; uyku bozuklukları, duyu durum değişiklikleri, konsantrasyon eksikliği, katılık, gözlerde kuruluk, idrar yapma sıklığında değişiklikler, düşük libido ve halsizlik [19,21].

Semptomlar geçici yada intermitan şekilde izlenebilir; buda spontan başlayan POY'da over aktivitesinin dalgalanmasına bağlıdır [22, 23]. Cerrahi menopozda ise semptomlar daha ciddi ve kalıcıdır.

Primer amonere ile gelen genç hastada bu semptomları görmeyiz; bu da semptomların östrojen eksikliğine değil östrojen çekilmesine bağlı olduğunu gösterir. Primer ve sekonder hipergonadotropik amonerenin klinik özelliklerinin farklılığını göstermeyi amaçlayan bir çalışmada sekonder amonereli 97 kadının %85.6'sında, primer amonereli 18 kadının %22.2'sinde intermitan östrojen eksikliği semptomları izlenmiştir [24].

Tedavi edilmeyen hastalarda semptomlar giderek azalır ancak bu zaman süresi öngörülemez.

2.1.4. TEŞHİS

POY tanısı 40 yaş altı 4-6 ay süre ile amoneresi veya oligomenoresi olan, AMH<1 ng/ml, en az 4 hafta ara ile 2 defa bakılan yüksek folikül stimulan hormon (FSH) değerleri ile birlikte konulur [25].

POY menstrüel düzensizlik, artmış gonadotropinler ve düşük estradiol ile karakterizedir. POY tanısında FSH seviyeleri altın standart olarak kullanılıyor ancak kesin tanı koydurucu değerleri için yeterli kanıt bulunmamaktadır. Literatürde FSH>40 mIU/ml (>20 mIU/ml veya >50 mIU/ml) olan bir çok yayın bulunmakta fakat FSH'ın kesin tanı koymadaki yeri tanımlanmamıştır. Goldenberg'in çalışmasında FSH seviyesi 33'ün üzerindeki primer amenoreli kadınlardan alınan over biyopsilerinde ve FSH>40 mIU/ml olan sekonder amenoreli kadınlardan alınan over biyopsilerinde folikül izlenmemiştir [26].

Özellikle otoantikör taşıyan bazı POY'lu hastalarda FSH seviyeleri bu değerlerden düşük izlenmektedir. La Marca çalışmasında özellikle steroid hücresi otoantikoru taşıyan kadınlarda (26-64 median 37) idiyopatik POY'li hastalara (61-166 median 99) göre düşük FSH seviyeleri izlemiştir [27]. Tanı koymada bu otoimmünitesi alan hastalarda dahil edildiğinde; ESHRE klavuz değerlendirme grubu tanı koydurucu değer FSH>25 mIU/ml olmasına karar vermiştir. Bu değer fizyolojik ovulasyon öncesi FSH pikinin de üstünde bir değerdir.

Over rezervini gösteren Anti-müllerian hormon (AMH) gibi daha net belirteçler vardır. Sağlıklı kadında folikül sayısı azaldıkça AMH seviyesi de gittikçe azalır ve menopozun hemen öncesi en düşük seviyesine iner. La Marca çalışmasında sekonder amenoreye neden olan değişik hasta gruplarında ve sağlıklı kontrol grubunda AMH seviyelerine bakmış; düşük AMH seviyelerini en baskın POY grubunda bulmuştur [28]. Düzenli siklusları olan düşük over rezervli hasta grubunda da AMH seviyesi düşük izlenmiştir.

Ultrasonun tanıdaki yeri kesin değildir. POY hastalarında over fonksiyonu dalgalı seyrettiğinden ultrasonda over aktivitesi izlenebilir ve POY diğer tanılardan ayırt edilemeyebilir. Tanıda laparoskopinin de over biyopsisi olarak yada almayarak yeri yoktur.

2.1.5. ETİYOLOJİ

POY etiolojisi geniş spektrumludur. POY'a Fragil X sendromu ve otozomal gen defekti gibi kromozomal ve genetik bozukluklar neden olabilir. Ayrıca otoimmün hastalıklar veya enfeksiyonlar, cerrahi, radyoterapi, kemoterapi gibi iatrojenik nedenlerde bulunmaktadır. Son olarak çevresel faktörlerde menopoz yaşını belirleyici olarak gösterilmiş ve POY nedeni olabilirler. Ancak POY tanısı almış hastaların büyük kısmında net bir neden bulunamaz ve idiyopatik POY denilmektedir.

Kromozomal hastalıklar:

Çalışmalar gösteriyor ki POY tanısı koyulan hastaların %10-12'sinde kromozomal hastalıklar saptanmış; bunlarında %94'ünde X kromozom bozukluğu görülmüştür (X kromozomu yapısal anomalisi ya da X anöploidisi). Anormal karyotip insidansı primer amonerede (%21) sekonder amonereden (%11) daha yüksektir [29, 30].

Fragile-X POY:

Erken menopoz ve Fragile-X mutasyonu arasındaki bağlantı 1991'de bulunmuştur, ancak Fragile-X taşıyıcılığı ve 40 yaş öncesi menstruasyonun sonlanması arasındaki ilişki ilk defa Schwartz ve arkadaşları tarafından 1994'de tanımlanmıştır [31],[32]. Tam mutasyonlu (200 CGG tekrarı) Fragile özellikle erkeklerde mental retardasyonla sonuçlanır. 55-200 CGG tekrarı premutasyon taşıyan kadınlarda ise entellektüel fonksiyonlar çok etkilenmez ancak %13-26 oranında POY gelişme riskinin arttığı görülmüştür [33]. POY gelişme riskinin tam mutasyonlarda ve orta derece CGG (45-55) tekrarında artmadığı bulunmuştur [34].

Otozomal Gen Mutasyonları:

Galaktozemi gibi puberteden önce teşhis edilen bazı genetik hastalıklar POY gelişmesinde yüksek risk artışıyla ilişkilidir [35].

Otoimmün Over Hasarı:

Otoimmün hastalıklara genel popülasyona göre POY hastalarında daha sık rastlanmakla beraber belli otoimmün hastalığı olan kadınlarda da POY görülme sıklığı daha yüksektir. Bunun bir otomimmün hastalığın sonucu (çölyak gibi) yada bazı otoimmün hastalıklar ile rastgele birlikte bulunup bulunmadığı belli değildir [36].

En önemli klinik ilişki Addison hastalığı ile bulunmuştur. Addison hastalığı ve tip-2 otoimmün poliglanduler sendromun POY için predispozan faktör olduğu bilinmektedir. Otoimmün POY'un %60-80'inin adrenal otoimmün kaynaklı olduğu bulunmuştur [37].

POY aynı zamanda lokalize ve adrenal olmayan sistemik hastalıklarla; tiroid hastalıkları, hipoparatiroidizm, hipofizit, tip-1 diyabet, ve endokrin olmayan otoimmün hastalıklar; sistemik lupus eritromatozis, şögren sendromu, romatoid artrit, immün trombositopenik purpura, otoimmün hemolitik anemi, pernisyoz anemi, vitiligo, alopesi areata, şölyak hastalığı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, primer biliyer siroz, glomerülonefrit, multipl skleroz ve myasthenia gravisle de bağlantılı olabilir.

Enfeksiyon Hastalıkları:

Olgu sunumları viral enfeksiyonu takiben POY oluşabildiğini işaret etmektedir, fakat POY olgularının %3-7'sini açıklayan sadece kabakulak ooforiti'nin POY yaptığı düşünülmektedir [38].

HIV pozitif kadınların (46-47 yaş) HIV pozitif olmayanlara (51 yaş) göre daha erken yaşta menopoza girdiğini gösteren çalışmalar vardır. Bu HIV'in POY'a neden olduğunu göstermez; bunu etkileyen sigara kullanımı, düşük vücut ağırlığı, sosyo-ekonomik düzey gibi başka faktörlerle ilişkili olabilir [39].

İatrojenik Nedenler:

Bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan kemoterapi ya da radyoterapi POY'a neden olabilir [40, 41]. Radyoterapi sonrası POY oluşum riski radyasyon verilen alana, radyasyonun dozuna ve hastanın yaşına bağlıdır [42]. Buna benzer olarak kemoterapinin gonadlara toksik etkisi de büyük ölçüde ilaca ve doza bağımlı olup yaşla da ilgilidir [43].

Histerektomi ve tubal sterilizasyon ile POY arasındaki ilişkiyi gösteren çalışma bulunmamaktadır. Fakat daha önce histerektomi veya tubal sterilizasyon

ameliyatı olan hastalarda ameliyat olmayanlara kıyasla erken menopoz yaşını gösteren çalışmalar mevcuttur [44, 45].

Endometrioma ve endometriozis gibi hastalıklar için bilateral over cerrahisi geçiren hastaların menopoz yaşının erken olduğu ve POY için risk faktörü olduğu gösterilmiştir [46]. Bir kohort çalışmasında endometriozis için bilateral over cerrahisi geçirmenin POY'a neden olduğu gösterilmiştir. Bu konuda yapılan diğer çalışmalar endometrioma cerrahisinin serum AMH seviyesini düşürdüğünü ve over rezervini azalttığını göstermektedir [47, 48].

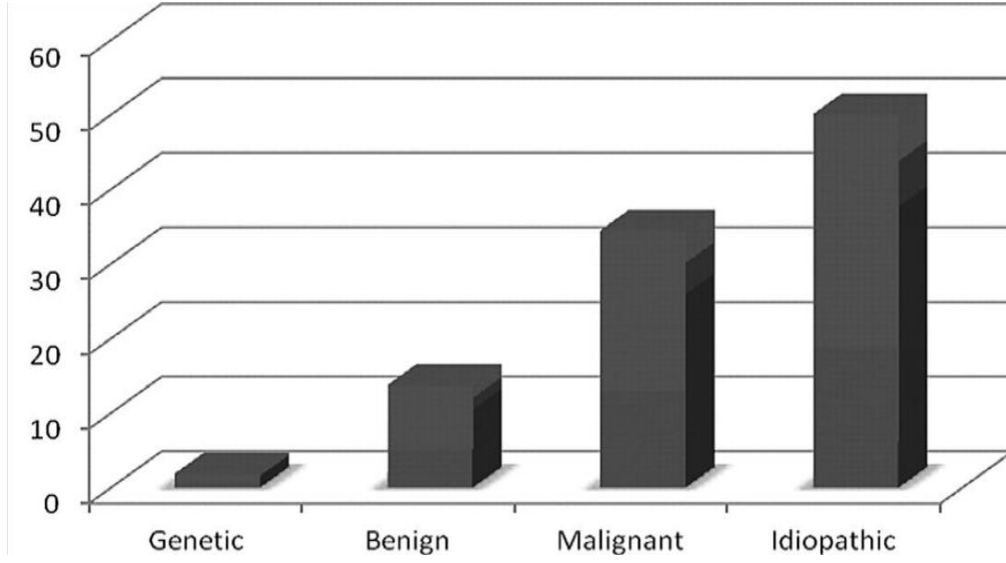
Çevresel Faktörler:

Sigara, alkol ve beslenmenin menopoz yaşına etkisi gösterilmiş olmakla beraber POY teşhisi koydurucu faktörler değildir. Sigaranın POY'a neden olduğu kanıtlanmamış ancak sigaranın overlere toksik etkisi ve bunun da erken menopoz yaşıyla bağlantısı bilinmektedir [49, 50].

İdiopatik POY:

POY oluşumunda birçok neden açıklanmış olmasına rağmen POY hastalarının büyük bir kısmında, yapılan araştırmalardan sonra elle tutulur bir neden bulunamamaktadır. Bu hastalar açıklanamayan ya da idiyopatik POY olarak teşhis edilir.

İdiopatik POY oranını gösteren primer bir çalışma bulunmamaktadır. Yakın zamanda West London menopause ve PMS Center (London, UK)'da yapılan POY nedenlerini içeren bir derlemede genetik (ve kromozomal), benign (otoimmün/enfeksiyöz), malign (kanseri sonrası) nedenler ve idiyopatik POY oranlarını gösteren bir grafik yayınlanmıştır [51]. Literatürde ki diğer derlemelerde idiyopatik POY oranı %90 veya tüm POY'ların büyük kısmı olarak verilmiştir [52-54] (Şekil 1).



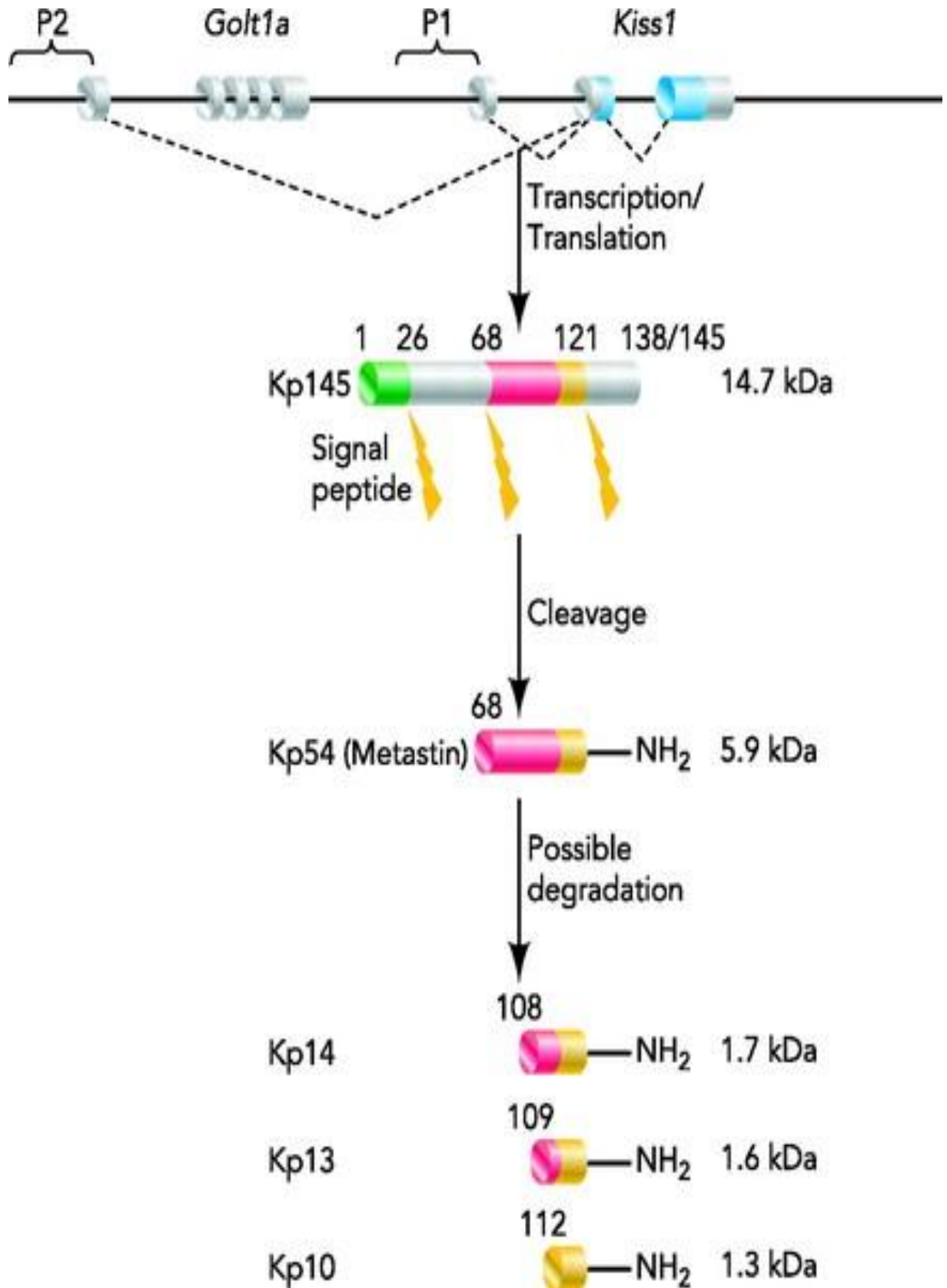
Şekil 1. Prematür over yetmezliği hastalarının etiyolojileri. (Maclaran K, Panay N. Premature ovarian failure. J Fam Plann Reprod Health Care 2011. West London Menopause and PMS Centre, London, UK).

2.2. KISSPEPTİN

Kisspeptin, ilk olarak Lee ve arkadaşları tarafından 1996'da malign melanom hücrelerinde metastaz supresör geni olan Kiss-1 gen ürünü olarak keşfedilmiştir ve bu nedenle Kiss-1 geninin 54 amino asitlik ürünü "metastin" (kisspeptin54) olarak isimlendirilmiştir [55]. Daha sonra bu peptidler ismini, Pensilvanya'da prekürsörleri kodlayan genin keşfedildiği şehre ait ünlü bir çikolata markasından (Hershey Kisses) almıştır. Kiss sözcüğündeki "ss" takısı supresör diziyi (suppressor sequence) ifade etmektedir [56].

Kiss-1 geni insan kromozomunda 1q32 üzerinde bulunur, dört ekson içerir ve 145 amino asitten oluşan Kiss-1 öncü peptidini ortaya çıkarır [57]. Kiss-1 proteininden kisspeptin-54, kisspeptin-14, kisspeptin-13 ve kisspeptin-10 oluşur (Şekil 2). Dolaşımda en fazla bulunan tipi kisspeptin-54'tür [58]. Proteinin C-terminal ucu amidleştirilir. Yani bütün kisspeptin formlarının C-terminalinde 10 aminoasitlik ortak bir dizi ve Arg-Phe-NH₂ motifi bulunur. Amidleştirilmiş olan bu kısım GPR-54 reseptörüne bağlanan kısımdır [58-61].

Kisspeptinler, deney farelerinde GPR-54, insanlarda AXOR12 olarak bilinen G proteini bağlantılı reseptörler ailesinin (G protein coupled receptor- GPCR) doğal ligandıdır [56, 62]. Ancak, araştırmalarda GPR-54 kullanılır. GPR-54, 396 amino asitlik bir reseptördür ve rhodopsin ailesinin (GPCR sınıfı) bir üyesidir [58]. GPR-54, memelilerde yüksek oranda korunmuştur, insan reseptörü, deney faresi reseptörü ile %85 homologtur [60]. GPR-54'ün etkinleştirilmesi için gerekli minimum uzunluk 10 amino asitlik karboksil terminal dizisidir [Kisspeptin-10 (Kp-10)] [58]. Kisspeptin reseptörüne bağlandığı zaman fosfolipaz-C'yi aktive eder ve hücre membranındaki fosfotidil-bifosfat hidrolize olur, ortaya diasil-gliserol ve inositol-1,4,5,-trifosfat (İP3) çıkar. İP3 aracılığı ile intraselüler Ca^{++} artar ve protein kinaz C aktive olur [62, 63]. GnRH salınımı hipotalamusta bu mekanizma ile gerçekleşir.



Şekil 2. Kisspeptinlerin Oluşumu. (d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH. The role of kisspeptin signaling in reproduction. Physiology. 2010).

Kisspeptin nöronlarının hipotalamusta dağılımı türler arasında değişmekle birlikte memelilerde bu nöronların 2 major bölgesi immunokimyasal ve in situ hibridizasyon yöntemleri ile tanımlanmıştır; arkuat nucleus (ARC)'de kaudal bir alan ve preoptik alan (POA)'da rostral bir kısımdır. Preoptik alanda ki rostral kısmın karşılığı kemirgenlerde anteroventral periventriküler nükleus (AVPV)'dedir. İnsanlarda, makaklarda ve koyunlarda ARC'de AVPV'ye oranla daha fazla kisspeptin nöronları bulunur [63, 64]. Bu iki alan da kisspeptin üretirler ancak farklı olarak (örneğin, seks steroidleri tarafından) düzenlenirler ve hipotalamus-hipofiz-gonad (HHG) aksının kontrolünde farklı önemli roller oynarlar [63].

ARC Kiss1 nöronları, türlere göre miktarları değişmekle birlikte Taşikinin (TAC), nörokinin-B (NKB) ve dinorfin (Dyn) de sentezlerler; bu nedenle, aynı zamanda KNDy (Kisspeptin/Nörokinin/Dynorfin) nöronları olarak da anılırlar. NKB ve Dyn, karşılıklı olarak kisspeptin nörosekresyonunu etkiledikleri gösterilmiştir (NKB: stimülatör; Dyn: inhibitör) [65].

Deney farelerine gonadektomi yapıldığında hipotalamusta Kiss-1 mRNA ekspresyonu artışı izlenip, seks steroidi replasmanı yapıldığında bu etkinin ortadan kalktığını gösteren kanıtlayıcı güncel çalışmalar mevcuttur [66, 67]. Sonuç olarak; Kiss-1 nöronlarının seks steroid reseptörlerini eksprese ettiği ve gonad kaynaklı seks steroidleri tarafından regüle edildiği, östrojenin GnRH nöronları üzerindeki etkilerine aracılık ettiği gösterilmiştir. GnRH salgısı, gonad tarafından üretilen seks steroidleri geri bildirim ile düzenlenir ancak GnRH nöronları bunun için uygun reseptörleri eksprese etmezler [64].

2.2.1. REPRODÜKTİF SİSTEME ETKİSİ

Kiss-1 gen ilk olarak tümör metastaz suppressor geni olarak tanımlanıp; gen ürünü olan metastinin GPR54 reseptörünü aktive ederek hücrel motilite ve proliferasyonu azaltması ile ortaya çıkmış olsada; 2003 yılında hipotalamus-hipofiz-gonad (HHG) aksında GnRH regülasyonundaki esas rolü gösterilmiştir. 2003 yılında 2 grubun GPR-54 reseptöründeki mutasyonun idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizme (İHH) yol açtığının keşfedilmesi ile Kiss-1 geninin reproduktif aks

yolundaki rolü ilk olarak ortaya koyulmuştur [68,69]. Ayrıca insanda GPR-54 reseptörünün plasenta, hipofiz, pankreas ve medulla spinaliste yüksek oranda eksprese edilmesi de endokrin fonksiyonları üzerinde ki rolünü destekleyicidir [58].

Memelilerde nöroendokrin reproduktif aksın anatomisi ve fizyolojisi kadın ve erkekte farklılıklar gösterir. Kisspeptin sistem de beyin cinsiyete göre farklılaşmasında kritik bir rol oynamaktadır [70]. Bu seksüel dimorfizm perinatal dönemde testesteron ve metabolitlerine maruz kalınan süreye bağlıdır [71].

Kisspeptinler ve reseptörleri arasındaki uygun etkileşim olmadığında pubertenin olmadığı gösterilmiştir; GPR54 geninde inaktif mutasyonları olan hipogonadotropik hipogonadizm olgularında olduğu gibi [68, 69, 72]. Ayrıca pubertede endojen kisspeptin salınımı ve sensitivitesi artmakta; primat ve ratlarda da puberteye geçişte Kiss-1 nöronlarının sayısının ve Kiss-1 m-RNA miktarının arttığı gösterilmiştir [70, 73, 74].

Kisspeptinin hipofiz üzerindeki etkisine bakıldığında, hipofiz üzerine ve gonadotropin salınımı üzerine direk etkisi izlenmeyip, gonadotropin salınımını indükleyen etkisini hipotalamus aracılığıyla yaptığı gözlenmiştir [75, 76].

Kisspeptinin ovulasyonda ki rolüne bakıldığında; foliküler faz sonunda ki artmış östrojen seviyesi yanı sıra aktive olmuş progesteron reseptörleri, AVPV'deki Kiss-1 nöronlarını aktive ederek GnRH salınım sıklığı ve amplitüdünü artırır; LH pikine ve ovulasyona aracılık ederler [66]. İnsan, maymun ve sibiryalı farelerinin overlerinde granüloza lutein hücrelerinde Kiss-1 ve GPR54 mRNA tespit edilmiştir. Bu lokal KISS1/GPR54 sisteminin varlığı, over fonksiyonunun regülasyonuna pozitif katkı sağladığını gösterebilir [73, 77]. Overde LH bağımlı matriks metalloproteinaz (MMP) ekspresyonu düşünüldüğünde, KISS1/GPR54 sistemi MMP aktivitesini regüle ederek reproduktif fonksiyonu kısmen destekleyebilir [78]. Yapılan çalışmalarda KISS1/GPR54'ün ovulasyonda ve over fonksiyonunun düzelmesinde ki olası rolü görülmüştür [79, 78] (Şekil 3). Ovulasyon öncesi ve dominant folikül geliştiğinde, serum ve kandaki kisspeptin seviyesinin ani yükselişine bağlı olarak kisspeptinin pre-ovulatuvar belirteç olarak kullanılabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur [80].

Kisspeptin ağırlıklı olarak plasenta da üretildiğinden gebelikte plazmada belirgin olarak artar. Bunun yanı sıra Kiss1 mRNA'nın sinsisyotrofoblastlarda lokalize olduğu histokimyasal analiz ile gösterilmiştir. Bütün bu datalar kisspeptinin trofoblast invazyonunun regülasyonunda ki olası rolünü gösterir. Çalışmalar kisspeptinin bazı MMP'lerin aktivitesini aşağı yönde regüle ederek trofoblast invazyonunu kontrol altında tuttuğunu gösterir [81].

Kiss1 ve Kiss1R mRNA plasenta, hipofiz, periferel kandaki lökositler, böbrek ve pankreasta izlendiği gibi aorta, koroner arter ve umbilikal vande de tespit edilmiştir [77, 82].

Kisspeptinin laktasyonla ilişkisini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Deney farelerine prolaktin uygulanması ile hipotalamusta kisspeptin ekspresyonunun ciddi ölçüde baskılandığı dolayısıyla GnRH salınımının azaldığı gösterilmiştir. PRL supresörü bromokriptin kullanılarak, farelerin üçüncü ventrikül rostral periventriküler (RP3V) alanında Kiss1 mRNA ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Neredeyse tüm memelilerde, emzirme, prolaktin üzerinden kisspeptin ekspresyonunun supresyonu ile laktasyonel anovulasyona katkıda bulunur [83, 84].

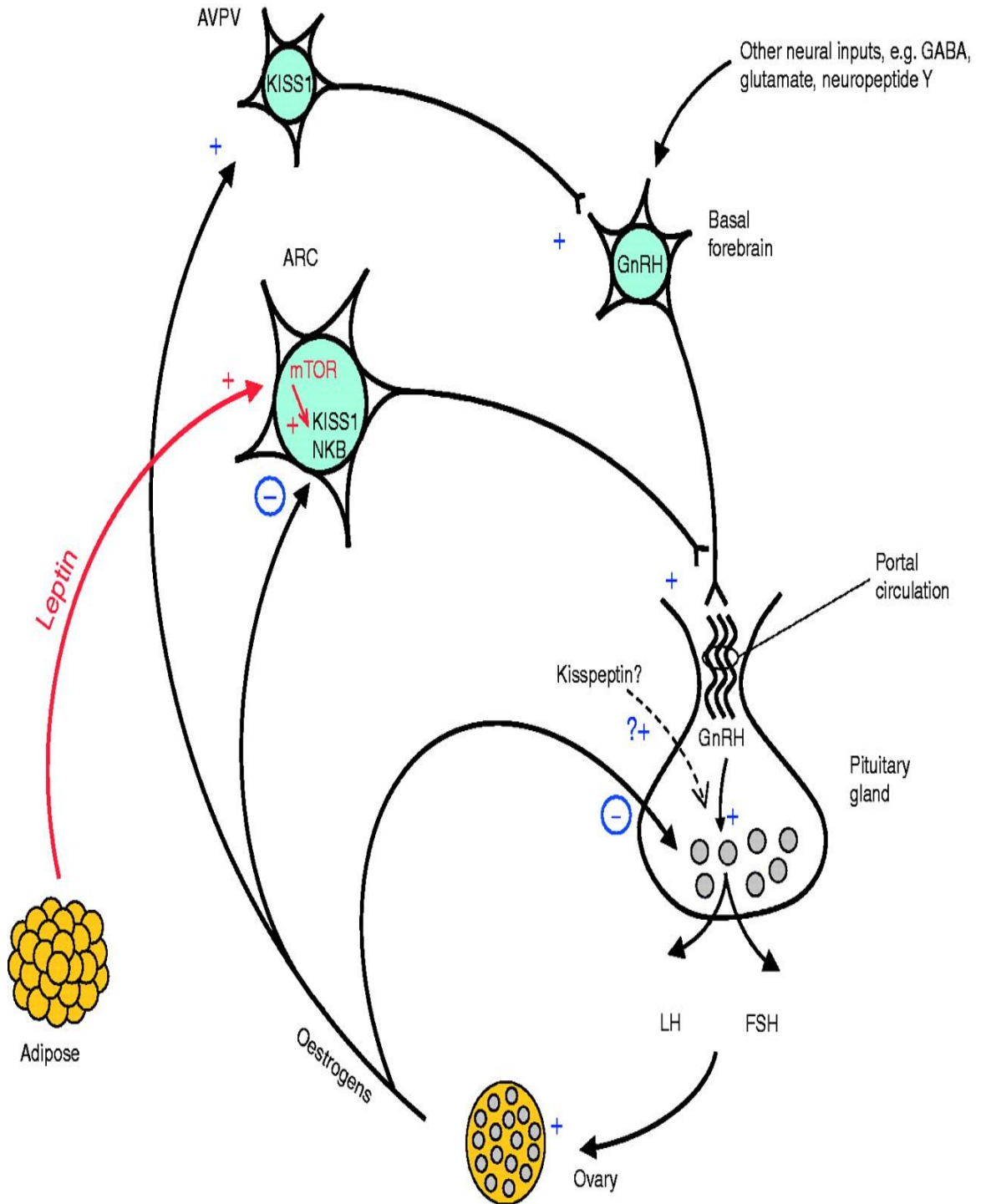
İnsanlarda ve maymunlarda over aktivitesinin durması ve E2 etkisinin ortadan kalkmasından sonra hipotalamusta postmenopozal kisspeptin seviyesi artışının meydana geldiği görülür. Ayrıca menopoz Kiss1, neurokinin B (NKB), substance P, dynorphin ve östrojen reseptör alfa (Eralpha) mRNA ekspresyonu eden infundibular (arkuat) nükleustaki nöronların hipertrofisi ile karakterizedir. İfundibular nükleusta ki bu nöronlar seks steroidlerinin gonadotropin salınımı üzerindeki etkisinde önemli rol oynamaktadır [64, 85]. Yine deney farelerinde Kiss1r heterozigotluğu ile yapılan bir çalışmada dolaşımdaki gonadotropin seviyesi azalmadan POY ve over foliküllerinin yok olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda Kiss1r allellerinin her ikisi de yok olduğunda foliküler maturasyonun ve ovulasyonun durduğu, primer GnRH olmadan tek seferlik gonadotropin enjeksiyonu ile de bu etkinin düzeltilemediği gösterilmiştir [97].

Kiss1/Kiss1r ve Kisspeptin/Kiss1r'nin ratların uterusunda ve insan endometrium'unda eksprese edildiğinin gözlenmesiyle uterus kökenli Kisspeptin/Kiss1r sinyal sisteminin implantasyonu düzenlediği öne sürülmüştür [87, 88]. Bu yönde deney farelerinde yapılan bir çalışmada; Kiss1-/- annede foliküler

maturasyon ve ovulasyonun başarılı bir şekilde olduğu ancak Kiss1+/- embriyonun uterusu implante olamadığı gösterilmiştir [89]. Yakın zamanda kisspeptin sinyal sisteminin gebeliğin erken döneminde endometrial desudializasyonda da rolü olduğuna dair çalışmalar mevcuttur [90].

Özet olarak, son çalışmalarla birlikte, Kiss1/GPR-54 sisteminin HHG aksının fizyolojisinde ve patofizyolojisinde yer aldığı açıkça gösterilmiştir. Kisspeptinlerin, GnRH sekresyonunun çok güçlü bir uyarıcısı olduğu ve hipotalamusa seks steroidlerinin negatif ve pozitif geri bildirimlerine aracılık ettiği izlenmiştir. Kisspeptinler; puberte, over fonksiyonu, trofoblast invazyonu, fertilité, doğum ve laktasyon anovulasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır [89, 91].





Şekil 3. Santral sinir sistemindeki Kisspeptin diyagramı. (Hameed S¹, Jayasena CN, Dhillo WS. Kisspeptin and fertility. J Endocrinol. 2011).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan, 11.09.2018 tarihli ve 54305 sayılı onay alındıktan sonra Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bünyesinde kurul kararından sonraki periyotta prospektif olarak gerçekleştirildi.

Anabilim Dalımız Üreme Endokrinolojisi ve Menopoz Polikliniği'nde ve Jinekoloji Polikliniği'nde çalışma hakkında detaylı olarak bilgilendirilen ve katılmayı kabul eden hastalardan ilgili kayıtlı onamları alındı. Hastaların anamnezleri, fizik muayene özellikleri, VKİ (kilo)/(boy)² formülü ile hesaplanarak kg/m² olarak çalışmamız için oluşturulan ayrı bir form kullanılarak kayıt edildi. Hastaların ailesinde erken menopoz hikayesi, özgeçmişinde sistemik hastalık ve geçirilmiş ameliyat kayıtları, sigara kullanımı anamnezleri kayıt altına alındı.

3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Çalışmaya Alınma Ölçütleri: 40 yaş altı, 4-6 ay süre ile amenoresi ya da oligomenoresi olan, AMH<1 ng/ml, 4 hafta aralıkla 2 defa bakılan FSH değerleri >25 mIU/ml olan üreme çağındaki POY tanısı almış hastalar ve kontrol grubu olarak 40 yaş altı üreme çağındaki POY tanısı almamış menstruasyon siklusu düzenli olgular çalışmaya dahil edildi.

Çalışmadan Dışlanma Ölçütleri: 40 yaş üstü kişiler, Over folikül havuzunu etkileyecek unilateral veya bilateral over cerrahisi geçirenler, over fonksiyonlarına zarar verecek kemoterapi ve radyoterapi alanlar, seyrek adet görmeyi açıklayacak başka bir endokrinolojik hastalığı olan olgular, kisspeptinin metastaz ile ilişkisi kanıtlanmış olması nedeniyle adneksiyel kitlesi olanlar ve malignite tanılı hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. LABORATUVAR

Seçilen olgulardan kan örnekleri sabah aç karnına 5 ml olacak şekilde alındı. Kan toplama işlemi tek kullanımlık, pirojenik olmayan ve endotoksin içermeyen jelli tüpler ile yapıldı. Jelli sarı kapaklı tüplere (5ml) rutin venöz kan alma yöntemi

uygulandı. Örneklerin pıhtılaşması için oda sıcaklığında 10-20 dakika beklendi. Örnekler 3000 r.p.m de 20 dakika santrifüje edildi. Serum örnekleri ependorflara alınarak hemen -80°C’de dondurularak saklandı.

Çalışmanın ikinci aşamasında yukarıdaki protokole göre alınıp saklanan bu kan örneklerinden üretici firmanın önerileri doğrultusunda kisspeptin düzeylerinin ölçümüne geçildi. Ölçümde kullanılan kit, Human Kisspeptin 1 (KISS1) ELISA Kit (Catalogue No. 201-12-4106) (SunRed Biotechnology Company) idi. Kisspeptin düzeyleri, ng/lt cinsinden hesaplandı.

Kisspeptin 1 analizi için insan serum örneklerini çalışmaya uygun kitler kullanılarak Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemiyle plak okuyucusunda (Thermo Scientific Multiskan FC, 2011-06, USA) yapıldı. Doku örneklerinde Kisspeptin 1 (KISS 1) belirlenerek, tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Çalışma aşağıdaki basamaklara göre yapıldı;

Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi. 5 adet standart; kitin içersinden çıkan 800 pg/ml lik stok standartın seri dilüsyonu ile elde edildi. Antikor ile kaplı mikropalak kuyucuklarına hazırlanan standartlardan 50 ‘ser µl eklendi. Ardından standartların üzerlerine 50 µl Streptavidin-HRP konuldu. Standartlar kuyucuklara pipetlendikten sonra sırasıyla serum örnekleri, her bir kuyucuğa 40 µl olacak şekilde pipetlendi. Serum örneklerinin üzerlerine sırasıyla 10 µl Streptavidin- HRP konuldu. Mikroplağın üzeri kapatılarak 37 C° de 60 dakika inkübasyona bırakıldı. Kit içerisinde bulunan 30X lik yıkama solusyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plate yıkayıcıda 350 µl de 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara sırasıyla 50 ‘ser µl Chromogen Solution A ve Chromogen Solution B pipetlendi. 10 dakika 37 C° de ışık almayacak şekilde inkübasyona bırakıldı. Tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solusyon eklendi.

Mikroplaka 10 dakika içerisinde 450 nm absorbandsda okundu. Kisspeptin için intra- ve inter-assay varyasyon katsayıları sırasıyla <%10 ve <%15 idi.

3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Hesaplamalar hazır istatistiksel yazılım SPSS Statistics version 21.0 SPSS ile yapıldı. Normal dağılım kontrolü için Kolmogorov- Smirnov testi kullanıldı. Gruplar arası farkı değerlendirmek üzere istatistiksel yöntem olarak, normal dağılımlı parametrik değerler için Student-t testi, normal dağılım olmadığında nonparametrik değerler için Mann-Whitney U testi. Kategorik karşılaştırmalar için ise Chi-kare testi kullanıldı. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde (n; %), sayısal değişkenler için normal dağılım gösteren parametreler için ortalama (\pm) standart sapma (ort \pm SD), normal dağılım göstermeyen parametreler için ortanca (minimum değer-maximum değer) olarak gösterildi. Korelasyon analizi için Pearson's korelasyon analizi kullanıldı. $P<0.05$ istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza 45 prematür over yetmezliği (POY) bulunan ve 45 kontrol hastası dahil edildi Tablo 1' de POY ve kontrol grubu vakaların demografik özellikleri görülmektedir. POY hastalarının yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kontrol grubundan yüksek bulundu ($28,76 \pm 6,74$ 'e karşı $25,27 \pm 5,31$, **p=0,008**). Her iki grup arasında boy, kilo ve vücut kitle indeksleri (VKİ)' leri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (Boy POY grubunda $160,44 \pm 6,14$ cm, kontrol grubunda $161,84 \pm 5,21$ cm, $p=0,247$; Kilo POY grubunda 62 ($34,6-110$) kg, kontrol grubunda 61 ($42-94$) kg, $p=0,958$; VKİ POY grubunda $24,08$ ($15,2-39,9$), kontrol grubunda $25,1$ ($16-41,7$), $p=0,716$). Her iki grubun gravide, abortus ve küretaj sayıları arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamasına karşın (sırasıyla $p=0,202$, $p=0,460$, $p=0,633$) fakat parite sayıları açısından istatistiksel bir anlamlılık tespit edildi. ($p=0,019$).

POY grubundaki hastaların %17,8'i sigara içerken, kontrol grubunda bu oran %13,3 olarak bulundu fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,561$). İlaç kullanımı açısından bakıldığında POY grubundaki hastaların %17,8'i ilaç kullanırken, kontrol grubunda bu oran %13,3 olarak bulundu fakat bu farkta istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,215$). POY olgularının %24,4'ünde ek sistemik bir hastalık bulunurken, kontrol grubunda bu oran %6,7 olarak bulundu (**p=0,019**). Daha önce herhangi bir cerrahi işlem açısından her iki grup arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,535$). Ailesinde erken menopoz hikayesi POY grubunda 10 (%22,2) hastada bulunurken, kontrol grubunda hiçbir olguda aşlesşnde erken menopoz hikayesi olmadığı görüldü (**p=0,001**).

Tablo 1. Erken over yetmezliği olguları ile kontrol grubu arasındaki demografik özellikler.

	POY	Kontrol	P
N	45	45	
Yaş (yıl) ortalama±SS	28,76±6,74	25,27±5,31	0,008
Boy (cm) ortalama±SS	160,44±6,14	161,84±5,21	0,247
Kilo (kg), ortanca (min-max)	62 (34,6-110)	61 (42-94)	0,958
VKİ, kg/m ² , ortanca (min-max)	24,08 (15,2-39,9)	25,1 (16-41,7)	0,716
Gravide, ortanca (min-max)	0 (0-9)	0 (0-7)	0,202
Parite, ortanca (min-max)	0 (0-5)	0 (0-2)	0,019
Abortus, ortanca (min-max)	0 (0-2)	0 (0-5)	0,460
Küretaj, ortanca (min-max)	0 (0-2)	0 (0-1)	0,633
Sigara kullanımı, n/N (%)	8/45 (17,8)	6/45 (13,3)	0,561
İlaç kullanımı, n/N (%)	8/45 (17,8)	4/45 (8,9)	0,215
HRT kullanımı, n/N (%)	29/42 (64,4)		
Sistemik hastalık, n/N (%)	11/45 (24,4)	3/45 (6,7)	0,019
Geçirilmiş cerrahi, n/N (%)	7/45 (15,6)	5/45 (11,1)	0,535
Ailede erken menopoz, n/N (%)	10/45 (22,2)	0/45 (0)	0,001

POY: Prematür over yetmezliği; SS: Standart sapma; HRT: Hormon replasman tedavisi

P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı.

Tablo 2' de POY ve kontrol grubu arasındaki hormonal parametreler ve kisspeptin düzeyleri arasındaki karşılaştırma görülmektedir. FSH ve LH düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde POY olgularında kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (FSH'in, POY grubunda ortanca değeri 28 (15,84-183) mIU/ml bulunurken, kontrol grubunda 5,4 (2,36-9,28) mIU/ml, **p<0,001**; LH'in, POY grubunda ortanca değeri 19,3 (14,58-85,4) mIU/ml bulunurken, kontrol grubunda 6,5 (1,3-14,4) mIU/ml, **p<0,001**). Estradiol ve prolaktin düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde POY olgularında kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (Estradiolün, POY grubunda ortanca değeri 34,7 (5-586) pg/ml bulunurken, kontrol grubunda 42,8 (17-237) pg/ml, **p=0,005**; prolaktinin, POY grubunda ortanca değeri 17,05±7,54 bulunurken, kontrol grubunda 21,58±7,39, **p=0,005**). TSH seviyeleri açısından her iki grup arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı (p=0,426). POY olgularının AMH düzeyleri, kontrol grubuna göre belirgin şekilde düşük bulundu (0,027 (0,001-0,487)' e karşı 2,79 (0,2-5,8) ng/ml, **p<0,001**).

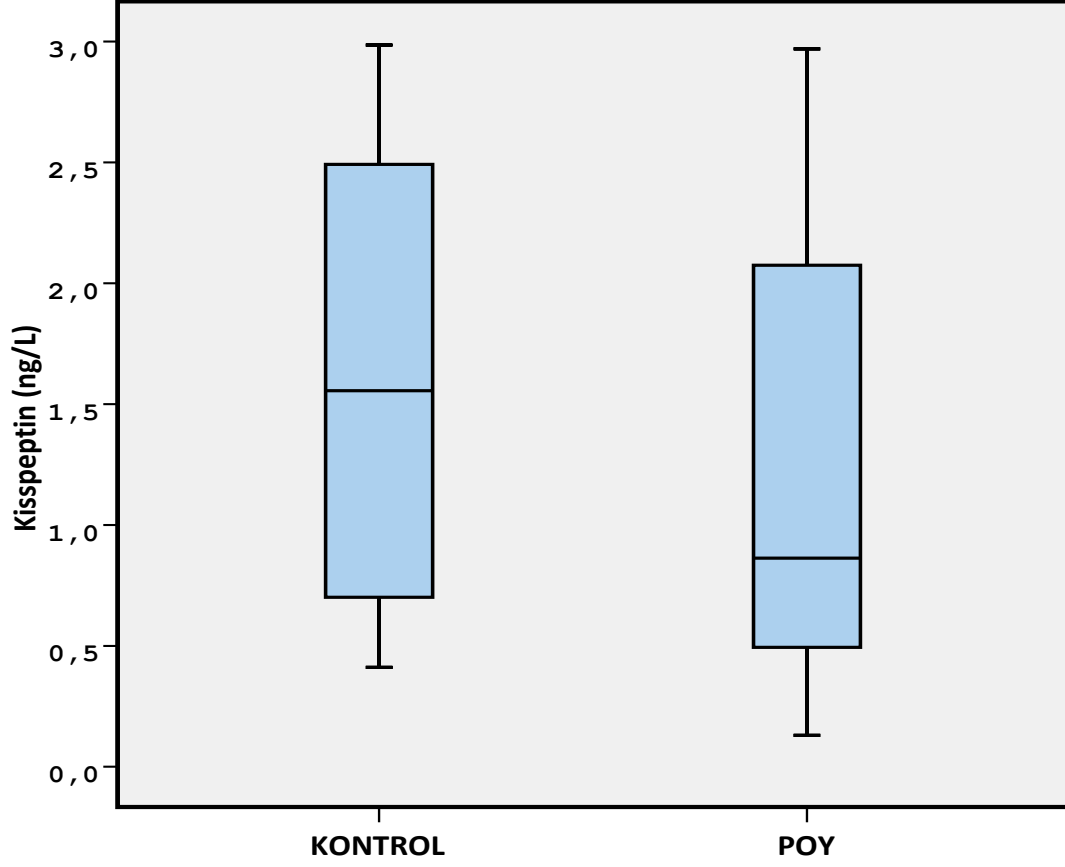
Serum kisspeptin düzeyleri POY olgularında ortanca değeri 0,86 (0,13-2,97) ng/L olarak bulunurken, kontrol grubunda bu değer istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek bulundu 1,56 (0,41-2,99) ng/L (**p=0.038**).

Tablo 3' de kisspeptin düzeyleri ile bakılan parametreler arasındaki korelasyon analizi görülmektedir. Sadece yaş ve AMH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulundu. Yaş ile kisspeptin düzeyleri arasında negatif yönde bir korelasyon bulunurken (r=-0,267, p=0,011), AMH ile kisspeptin arasında pozitif yönde bir korelasyon bulundu (r=0,221, p=0,036). Diğer parametreler ile kisspeptin düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon görülmedi.

Tablo 2. Erken over yetmezliği olguları ile kontrol grubu arasındaki hormonal parametrelerin karşılaştırılması.

	POY	Kontrol	P
N	45	45	
FSH, (mIU/ml) ortanca (min-max)	28 (15,84-183)	5,4 (2,36-9,28)	<0,001
LH, (mIU/ml) ortanca (min-max)	19,3 (14,58-85,4)	6,5 (1,3-14,4)	<0,001
E2 (pg/ml), ortanca (min-max)	34,7 (5-586)	42,8 (17-237)	0,005
Prolaktin (ng/ml), ortalama±SS	17,05±7,54	21,58±7,39	0,005
TSH (mIU/l), ortalama±SS	2,16±0,87	2,31±0,83	0,426
AMH (ng/ml), ortanca (min-max)	0,027 (0,001-0,487)	2,79 (0,2-5,8)	<0,001
Kisspeptin, ng/L ortanca (min-max)	0,86 (0,13-2,97)	1,56 (0,41-2,99)	0,038

POY: Prematür over yetmezliği; FSH: Folikül stimulan hormon; LH: Lüteinizan hormon, E2: Estradiol, TSH: Tiroid stimulan hormon; AMH: Anti müllerian hormon; SS: Standart sapma
P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı.

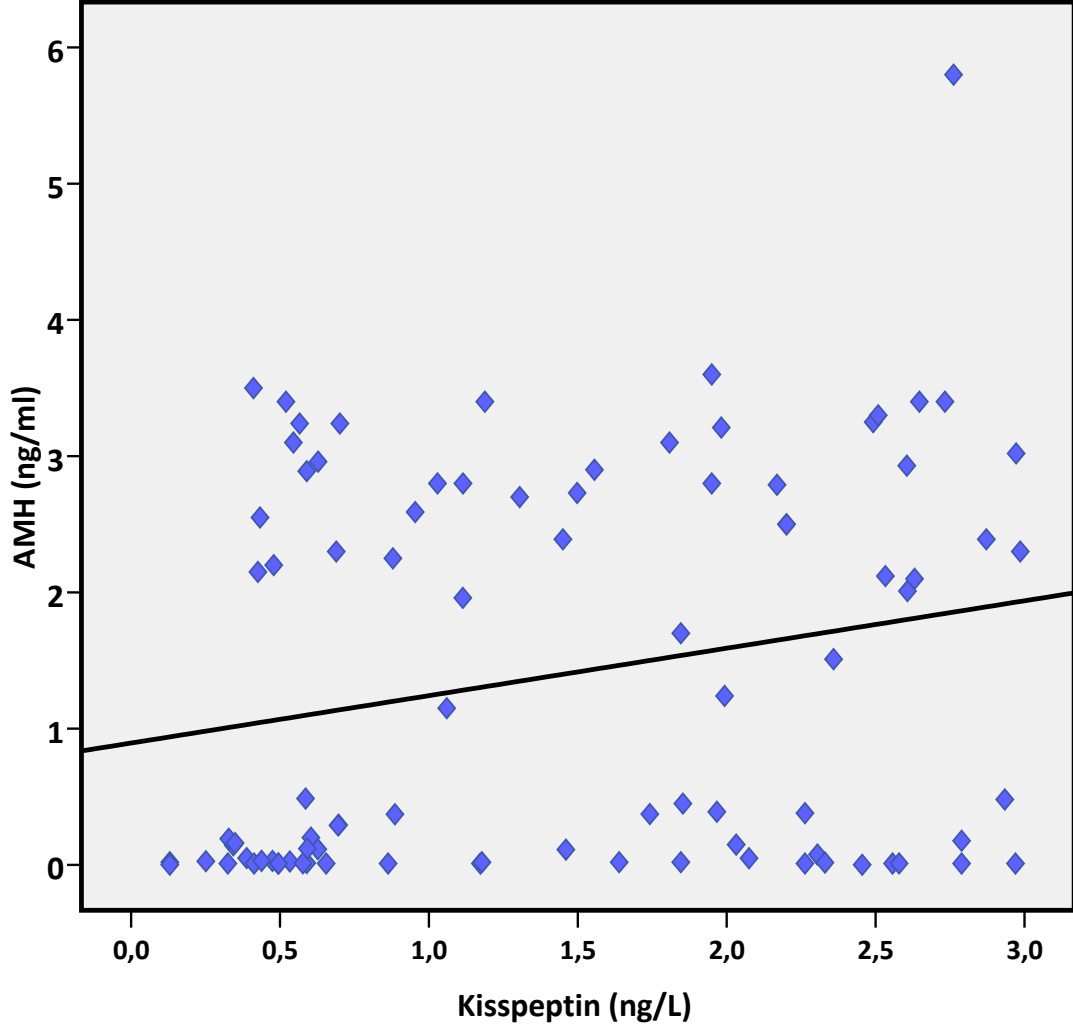


Şekil 4. Serum kisspeptin seviyelerinin Kontrol ve POY grupları arasındaki farkın gösterildiği Box Plot grafik.

Tablo 3. Kisspeptin ile diğerk hormonal parametreler ve demografik özellikler arasında korelasyon analizi.

	Kisspeptin	
	r	p
Yaş	-0,267	0,011
VKİ	-0,021	0,847
FSH	-0,131	0,220
LH	-0,164	0,122
Estradiol	-0,48	0,655
Prolaktin	0,025	0,814
TSH	0,057	0,591
AMH	0,221	0,036

FSH: Folikül stimulan hormon; LH: Lüteinizan hormon, E2: Estradiol,
TSH: Tiroid stimulan hormon; AMH: Anti müllerian hormon
P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı



Şekil 5. Serum Kisspeptin ve AMH arasındaki korelasyonu gösteren grafik.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda prematür over yetmezliği (POY) bulunan hastaların serum kisspeptin seviyeleri ile over fonksiyonları yönünden normal olan kadınların serum kisspeptin seviyelerini karşılaştırmayı amaçladık. POY 40 yaşından önce over fonksiyonlarının kaybolması ile beraber serum gonadotropin seviyelerinin menopozal dönemdeki değerlere yükselmesi olarak tanımlanmaktadır [92]. Erken over yetmezliği reproduktif kadınların yaklaşık %1'ini [4] etkileyen ve fonksiyonel oositlerin prematür kaybolmasıyla [93] karakterize bir hastalık olmasından dolayı son yıllarda oositin canlılığını devam ettiren faktörlerin tespit edilmesine ve POY gelişimine yol açan patolojik mekanizmaların ortaya çıkarılmasına yönelik çalışmalar oldukça önemli yer tutmaktadır.

Kisspeptinlerin hipotalamus-hipofiz-gonad (HHG) aksının regülasyonunda ilişkili olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [94]. Kisspeptinin 2001 yılında G protein coupled reseptör (GPR54)'ün doğal bir ligandı olduğunun belirlenmesiyle kisspeptin reseptörü (KISS1R) olarak da adlandırılır [58, 62, 95]. KISS1 / GPR54 sistemi, puberte döneminde gonadotropin salgılanmasının artmış olduğunu bildirmek için sinyal göndermek, memeli üreme fonksiyonlarının oluşturulmasında ve HHG aksının düzenlenmesinde temel rol oynamaktadır [96, 97]. KISS1 'in prepubertal overlerden ekspresyonu ihmal edilebilir ve preovulatar dönemde gonadotropin dalganması sırasında ani bir artış gösterir [86]. Hayvan çalışmalarında, kisspeptin uygulanmasının puberte prekoksya neden olduğu [74, 98, 99], KISS1/GPR54 genindeki mutasyonların da parsiyel seksüel gelişimden ciddi hipogonadizme kadar gidebilen çeşitli bozukluklara yol açabildiği gösterilmiştir [83]. Bulgulara göstermektedir ki, kisspeptin gelişimin her fazında etkili olabilmektedir [83]. Üreme fonksiyonların her aşamasında etkili olabilen kisspeptinin, üreme çağındaki kadınların yaklaşık %1'ini etkileyen ve %75-90'ının [1] etiolojisinin hala bilinmediği erken over yetmezliği durumunda da rol alabileceği düşüncesiyle 45 POY olan ve 45 sağlıklı üreme çağındaki kadının serum kisspeptin düzeylerini araştırmayı amaçladık.

Literatürde bu konuda oldukça kısıtlı çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızda serum kisspeptin seviyeleri belirgin olarak kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. Serum kisspeptin düzeyleri POY olgularında ortanca değeri 0,86 (0,13-2,97) ng/L

olarak bulunurken, kontrol grubunda bu değer 1,56 (0,41-2,99) ng/L olarak bulundu ($p=0.038$). Bizim alışmamızdaki bulgumuzun aksine Kanasaki H. ve arkadaşlarının yapmış olduğu normal menstrüel siklusu olan kadınlarla, gebe, postmenopozal, POY ve idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizmi olan olguların serum kisspeptin seviyelerini karşılaştırdığı çalışmasında, POY olguları ile normal kadınlar arasında serum kisspeptin seviyeleri arasında istatistiksel anlamlı bir fark görülmemiştir [100]. Ancak Kanasaki H. ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada POY olgu sayısının 5 ve kontrol kadın sayısının 13 olduğu gözönüne alınırsa, çalışmamızdaki olgu sayısının daha fazla olması nedeniyle sonuçlarımızın daha güvenilir olduğunu düşünmekteyiz. Gaytan F. ve arkadaşlarının yapmış olduğu fare çalışmasında, kisspeptin reseptör hoplo-yetersizliğinin, farelerde POY gelişimini indüklediğini ve bu durumun gonadotropin salgılanmasındaki bir kusura bağlı olmadığını göstermişlerdir [86]. Bu alışma ile POY olgularında kisspeptin eksikliğinin bir sonuçtan çok hastalığın ortaya çıkmasının bir nedeni olabileceğini desteklediği görülmektedir. Bizim alışmamızda bulduğumuz diğer bir sonuç kisspeptin düzeyleri ile FSH ve LH düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon görülmemiş olmasıdır ki (FSH-Kisspeptin için $r= -0,131$, $p= 0,220$; LH--Kisspeptin için $r= -0,164$, $p= 0,122$), buna benzer sonuçlar Kanasaki H. [100] ve arkadaşlarının ve elik F. [101] ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda da görülmektedir.

Postmenopozal dönemde gonadotropin hipersekresyonunun nedeninin KİSS1 mRNA seviyesindeki artışa bağlı olduğunu gösteren çalışmalar olmasına rağmen [85, 102], postmenopozal kadınların serum kisspeptin düzeyleri premenopozal kadınlar arasındaki farkın araştırıldığı literatürde bulunan iki çalışmanın ikisinde de istatistiksel olarak bir farkın bulunmadığı görülmektedir [101, 103]. Bu farkı açıklayabilecek bir kaç neden olabilir. Bunlardan birincisi, menopozal dönemde kisspeptin ekspresyonu, postmenopozal GnRH düzeyine benzer şekilde [104], sadece beyinde sınırlı olmakla beraber periferik dolaşımda artış görülmeyebilir [103]. İkincisi kisspeptin ve GnRH sekresyonu postmenopozal kadınlarda ve primatlarda pulsatil olarak salgılanmakta ve bu çalışmalarda yapılmayan sık aralıklarla ve sürekli olarak örnek alınmasının olduğudur [103].

KİSS1 sisteminin hipotalamik fonksiyonları üzerinde oldukça fazla ilerleme kaydedilmiş olmasına rağmen over üzerindeki rolü henüz tam olarak aydınlatılmış değildir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda kisspeptin ve KİSS1 reseptörünün memelilerdeki farklı dokularda ekspresyonunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır

[105, 89]. Yakın zamanda insan over dokusunda da KİSS1 sisteminin mevcut olduğu gösterilmiştir [106]. Anti müllerian hormon (AMH) özellikle folikül gelişiminin erken aşamasındaki granüloza hücrelerinden salgılanan ve yaş ilerledikçe primordiyal foliküllerin tükenmesiye azalmaya başlayan, over rezervini değerlendirmede kullanılan bir hormondur [107]. Çalışmamızda serum kisspeptin seviyesi ile AMH arasında pozitif yönde bir korelasyon bulduk ($r= 0,221$, $p= 0,036$). Hu KL ve arkadaşları da yaptıkları çalışmalarında bizim çalışmamıza benzer şekilde, serum AMH konsantrasyonu ile KİSS1 ekspresyonu arasında oldukça kuvvetli bir ilişki bulmuşlardır [108]. Çalışmamızda ayrıca olguların yaşı ve serum kisspeptin konsantrasyonu arasında negatif bir korelasyon bulduk ($r= -0,267$, $p= 0,011$). Literatürde kisspeptinin yaş ile ilişkisi hakkında farklı sonuçlar bulunmaktadır. Hu KL ve arkadaşları yaş ile serum KİSS1 arasında herhangi bir korelasyon bulamazken, Fernandois D. [109] ve arkadaşları da ratlarda yaptıkları çalışmada pozitif yönde bir korelasyon bulmuşlardır. Bu farklılık çalışmaların farklı türlerde yapılması ile açıklanabileceği gibi bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara dayanarak yaşın ilerlemesiyle beraber serum kisspeptin düzeyinin azalma eğiliminde ve yine AMH'nin azalması ile birlikte serum kisspeptin konsantrasyonunun azalmasının, kisspeptin düzeylerinin over fonksiyonlarının azalmasıyla beraber azalma eğiliminde olması, over kaynaklı kisspeptin sekresyonunun azalması ile açıklanabilir. Daha önceki çalışmalarda kisspeptin seviyesi ile vücut kitle indeksi (VKİ) arasında negatif yönde korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar [110-111] olmasına rağmen bizim çalışmamızda serum kisspeptin düzeyleri ile VKİ arasında herhangi bir korelasyon bulamadık ($r= -0,021$, $0,847$).

6. SONUÇ

Günümüzde sebep ve sonucuna yönelik araştırmaların giderek önem kazandığı erken over yetmezliği hastalarında yapmış olduğumuz bu çalışmada serum kisspeptin seviyelerinin normal sağlıklı kadınlardan istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha az olduğunu ulaşılabilen literatürde ilk kez göstermiş olduk. AMH ve yaş ile korelasyon bulduğumuz kisspeptinin, over fonksiyonlarının azalması ile birlikte, over kaynaklı kisspeptin sekresyonunun azalmasından dolayı olabileceğini düşünmekteyiz. Bu konu ile ilgili yapılacak çalışmaların artması ile sonuçların daha net bir şekilde yönleneceği görüşünü taşımaktayız.



7. KAYNAKLAR

1. Nelson LM. Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med* 2009; 360:606.
2. Schmidt PJ, Luff JA, Haq NA, Vanderhoof VH, Koziol DE, Calis KA, Rubinow DR, Nelson LM. Depression in women with spontaneous 46, XX primary ovarian insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96: E278-287.
3. Sadrzadeh S, Painter RC, van Kasteren YM, Braat DD, Lambalk CB. Premature ovarian insufficiency and perinatal parameters: A retrospective case-control study. *Maturitas*. 2017 Feb;96:72-76.
4. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1986;67: 604-606.
5. Krailo MD, Pike MC. Estimation of the distribution of age at natural menopause from prevalence data. *Am J Epidemiol* 1983;117: 356-361.
6. Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Gold EB, Santoro N. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. *Hum Reprod* 2003;18: 199-206.
7. Wu X, Cai H, Kallianpur A, Li H, Yang G, Gao J, Xiang YB, Ji BT, Yu T, Zheng W, Shu XO. Impact of Premature Ovarian Failure on Mortality and Morbidity among Chinese Women. *PLoS One* 2014;9: e89597.
8. Baron JA. Smoking and estrogen-related disease. *Am J Epidemiol* 1984;119: 9-22.
9. Sun L, Tan L, Yang F, Luo Y, Li X, Deng HW, Dvornyk V. Meta-analysis suggests that smoking is associated with an increased risk of early natural menopause. *Menopause* 2012;19: 126-132.
10. Gold EB, Crawford SL, Avis NE, Crandall CJ, Matthews KA, Waetjen LE, Lee JS, Thurston R, Vuga M, Harlow SD. Factors related to age at natural menopause: longitudinal analyses from SWAN. *Am J Epidemiol* 2013;178: 70-83. *um Reprod* 2003;18: 199-206.
11. Morris DH, Jones ME, Schoemaker MJ, McFadden E, Ashworth A, Swerdlow AJ. Body mass index, exercise, and other lifestyle factors in relation to age at natural menopause: analyses from the breakthrough generations study. *Am J Epidemiol* 2012;175: 998-1005.
12. Bromberger JT, Matthews KA, Kuller LH, Wing RR, Meilahn EN, Plantinga P.

- Prospective study of the determinants of age at menopause. *Am J Epidemiol* 1997;145: 124-133.
13. Dorjgochoo T, Kallianpur A, Gao YT, Cai H, Yang G, Li H, Zheng W, Shu XO. Dietary and lifestyle predictors of age at natural menopause and reproductive span in the Shanghai Women's Health Study. *Menopause* 2008;15: 924-933.
 14. Aydin ZD. Determinants of age at natural menopause in the Isparta Menopause and Health Study: premenopausal body mass index gain rate and episodic weight loss. *Menopause* 2010;17: 494-505.
 15. van Noord PA, Dubas JS, Dorland M, Boersma H, te Velde E. Age at natural menopause in a population-based screening cohort: the role of menarche, fecundity, and lifestyle factors. *Fertil Steril* 1997;68: 95-102.
 16. Whalley LJ, Fox HC, Starr JM, Deary IJ. Age at natural menopause and cognition. *Maturitas* 2004;49: 148-156.
 17. Kuh D, Butterworth S, Kok H, Richards M, Hardy R, Wadsworth ME, Leon DA. Childhood cognitive ability and age at menopause: evidence from two cohort studies. *Menopause* 2005;12: 475-482.
 18. Otero UB, Chor D, Carvalho MS, Faerstein E, Lopes Cde S, Werneck GL. Lack of association between age at menarche and age at menopause: Pro-Saude Study, Rio de Janeiro, Brazil. *Maturitas* 2010;67: 245-250.
 19. Conway GS. Premature ovarian failure. *Br Med Bull* 2000;56: 643-649.
 20. Davis SR, Jane F. Sex and perimenopause. *Aust Fam Physician* 2011;40: 274-278.
 21. Smith JA, Vitale S, Reed GF, Grieshaber SA, Goodman LA, Vanderhoof VH, Calis KA, Nelson LM. Dry eye signs and symptoms in women with premature ovarian failure. *Arch Ophthalmol* 2004;122: 151-156.
 22. Welt CK. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;68: 499-509.
 23. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, Laven JS, Goverde AJ, Broekmans FJ, Themmen AP, de Jong FH, Fauser BC, Dutch Premature Ovarian Failure C. Anti-Mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94: 786-792.
 24. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril* 1990;53: 804-810.

25. European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod*. 2016 May;31(5):926-37.
26. Goldenberg RL, Grodin JM, Rodbard D, Ross GT. Gonadotropins in women with amenorrhea. The use of plasma follicle-stimulating hormone to differentiate women with and without ovarian follicles. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Aug 1;116(7):1003-12.
27. La Marca A¹, Marzotti S, Brozzetti A, Stabile G, Artenisio AC, Bini V, Giordano R, De Bellis A, Volpe A, Falorni A; Italian Addison Network. Primary ovarian insufficiency due to steroidogenic cell autoimmunity is associated with a preserved pool of functioning follicles. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Oct;94(10):3816-23. doi: 10.1210/jc.2009-0817.
28. La Marca A, Pati M, Orvieto R, Stabile G, Carducci Artenisio A, Volpe A. Serum anti-mullerian hormone levels in women with secondary amenorrhea. *Fertil Steril* 2006;85: 1547-1549.
29. Jiao X, Qin C, Li J, Qin Y, Gao X, Zhang B, Zhen X, Feng Y, Simpson JL, Chen ZJ. Cytogenetic analysis of 531 Chinese women with premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2012;27: 2201-2207.
30. Kalantari H, Madani T, Zari Moradi S, Mansouri Z, Almadani N, Gourabi H, Mohseni Meybodi A. Cytogenetic analysis of 179 Iranian women with premature ovarian failure. *Gynecol Endocrinol* 2013;29: 588-591.
31. Cronister A, Schreiner R, Wittenberger M, Amiri K, Harris K, Hagerman RJ. Heterozygous fragile X female: historical, physical, cognitive, and cytogenetic features. *Am J Med Genet* 1991;38: 269-274.
32. Schwartz CE, Dean J, Howard-Peebles PN, Bugge M, Mikkelsen M, Tommerup N, Hull C, Hagerman R, Holden JJ, Stevenson RE. Obstetrical and gynecological complications in fragile X carriers: a multicenter study. *Am J Med Genet* 1994;51: 400-402.
33. Wittenberger MD, Hagerman RJ, Sherman SL, McConkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW, Corrigan EC, Simpson JL, Nelson LM. The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril* 2007;87: 456-465.
34. Bennett CE, Conway GS, Macpherson JN, Jacobs PA, Murray A. Intermediate

- sized CGG repeats are not a common cause of idiopathic premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2010;25: 1335-1338.
35. Gubbels CS, Land JA, Evers JL, Bierau J, Menheere PP, Robben SG, Rubio-Gozalbo ME. Primary ovarian insufficiency in classic galactosemia: role of FSH dysfunction and timing of the lesion. *J Inherit Metab Dis* 2013;36: 29-34.
 36. La Marca A, Brozzetti A, Sighinolfi G, Marzotti S, Volpe A, Falorni A. Primary ovarian insufficiency: autoimmune causes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010;22: 277-282.
 37. Silva CA, Yamakami LY, Aikawa NE, Araujo DB, Carvalho JF, Bonfa E. Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev* 2014;13: 427- 430.
 38. Kokcu A. Premature ovarian failure from current perspective. *Gynecol Endocrinol* 2010;26: 555-562.
 39. Kojic EM, Wang CC, Cu-Uvin S. HIV and menopause: a review. *J Womens Health (Larchmt)* 2007;16: 1402-1411.
 40. Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y. Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 1977;39: 1403-1409.
 41. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998;27: 927-943.
 42. Wallace WH, Thomson AB, Saran F, Kelsey TW. Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005;62: 738-744.
 43. Wallace WH. Oncofertility and preservation of reproductive capacity in children and young adults. *Cancer* 2011;117: 2301-2310.
 44. Siddle N, Sarrel P, Whitehead M. The effect of hysterectomy on the age at ovarian failure: identification of a subgroup of women with premature loss of ovarian function and literature review. *Fertil Steril* 1987;47: 94-100.
 45. Visvanathan N, Wyshak G. Tubal ligation, menstrual changes, and menopausal symptoms. *J Womens Health Gend Based Med* 2000;9: 521- 527.
 46. Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause. *Hum Reprod* 2011;26: 3000-3007.
 47. Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of excision of ovarian endometrioma

- on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97: 3146-3154.
48. Simpson JL. Genetic and phenotypic heterogeneity in ovarian failure: overview of selected candidate genes. *Ann N Y Acad Sci* 2008;1135: 146- 154. Somigliana E, Berlanda N, Benaglia L, Vigano P, Vercellini P, Fedele L. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimullerian hormone level modifications. *Fertil Steril* 2012;98: 1531-1538.
 49. Pokoradi AJ, Iversen L, Hannaford PC. Factors associated with age of onset and type of menopause in a cohort of UK women. *Am J Obstet Gynecol* 2011;205: 34 e31-13.
 50. Hardy R, Kuh D, Wadsworth M. Smoking, body mass index, socioeconomic status and the menopausal transition in a British national cohort. *Int J Epidemiol* 2000;29: 845-851.
 51. Maclaran K, Panay N. Premature ovarian failure. *J Fam Plann Reprod Health Care* 2011;37: 35-42.
 52. Nelson LM, Covington SN, Rebar RW. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. *Fertil Steril* 2005;83: 1327-1332.
 53. Nippita TA, Baber RJ. Premature ovarian failure: a review. *Climacteric* 2007;10: 11-22.
 54. Vujovic S. Aetiology of premature ovarian failure. *Menopause Int* 2009;15: 72-75.
 55. Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 1996;88(23):1731-7.
 56. Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Letters*. 1999;446(1):103-7.
 57. West A, Vojta PJ, Welch DR, Weissman BE. Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KISS1). *Genomics*. 1998;54(1):145-8.

58. Kotani M, Detheux M, Vandenberghe A, Communi D, Vanderwinden J-M, Le Poul E, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(37):34631-6.
59. KAFA İM, EYİGÖR Ö. Kisspeptinler ve Kisspeptin Nöronları: Üreme Sistemi Üzerine Etkileri ve Hipotalamik Yerleşimleri. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 2011;37(1):53-60.
60. Clements MK, McDonald TP, Wang R, Xie G, O'Dowd BF, George SR, et al. FMRamide-related neuropeptides are agonists of the orphan G-protein-coupled receptor GPR54. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2001;284(5):1189-93.
61. Dhillo W. Kisspeptin: a novel regulator of reproductive function. *Journal of Neuroendocrinology*. 2008;20(8):963-70.
62. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(31):28969-75.
63. d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH. The role of kisspeptin signaling in reproduction. *Physiology*. 2010;25(4):207-17.
64. Nejad SZ, Tehrani FR, Zadeh-Vakili A. The role of kisspeptin in female reproduction. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*. 2017;15(3).
65. Maguire CA, Song YB, Wu M, León S, Carroll RS, Alreja M, et al. Tac1 signaling is required for sexual maturation and responsiveness of GnRH neurons to Kisspeptin in the male mouse. *Endocrinology*. 2017;158(7):2319-29.
66. Kauffman AS, Gottsch ML, Roa J, Byquist AC, Crown A, Clifton DK, et al. Sexual differentiation of Kiss1 gene expression in the brain of the rat. *Endocrinology*. 2007;148(4):1774-83.

67. Adachi S, Yamada S, Takatsu Y, Matsui H, Kinoshita M, Takase K, et al. Involvement of anteroventral periventricular metastin/kisspeptin neurons in estrogen positive feedback action on luteinizing hormone release in female rats. *J Reprod Dev.* 2007;53(2):367–78.
68. de Roux N, Genin E, Carel J-C, Matsuda F, Chaussain J-L, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2003;100(19):10972-6.
69. Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno Jr JS, Shagoury JK, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *Obstetrical & Gynecological Survey.* 2004;59(5):351-3.
70. Kauffman AS. Coming of age in the kisspeptin era: sex differences, development, and puberty. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;324(1-2):51–63.
71. Tena-Sempere M. Kisspeptin/GPR54 system as potential target for endocrine disruption of reproductive development and function. *Int J Androl.* 2010;33(2):360–8.
72. Funes S, Hedrick JA, Vassileva G, Markowitz L, Abbondanzo S, Golovko A, et al. The KiSS-1 receptor GPR54 is essential for the development of the murine reproductive system. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;312(4):1357–63.
73. Mayer C, Acosta-Martinez M, Dubois SL, Wolfe A, Radovick S, Boehm U, et al. Timing and completion of puberty in female mice depend on estrogen receptor alpha-signaling in kisspeptin neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(52):22693–8.
74. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(6):2129–34.
75. Smith JT, Rao A, Pereira A, Caraty A, Millar RP, Clarke IJ. Kisspeptin is present in ovine hypophysial portal blood but does not increase during the preovulatory luteinizing hormone surge: evidence that gonadotropes are not direct targets of kisspeptin in vivo. *Endocrinology.* 2008;149(4):1951–9.

76. Luque RM, Cordoba-Chacon J, Gahete MD, Navarro VM, Tena-Sempere M, Kineman RD, et al. Kisspeptin regulates gonadotroph and somatotroph function in nonhuman primate pituitary via common and distinct signaling mechanisms. *Endocrinology*. 2011;152(3):957–66.
77. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev*. 2012;92(3):1235–316.
78. Shahed A, Young KA. Differential ovarian expression of KiSS-1 and GPR-54 during the estrous cycle and photoperiod induced recrudescence in Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *Mol Reprod Dev*. 2009;76(5):444–52.
79. Revel FG, Saboureau M, Masson-Pevet M, Pevet P, Mikkelsen JD, Simonneaux V. Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamsters. *Curr Biol*. 2006;16(17):1730–5.
80. Javed Z, Qamar U1, Sathyapalan T. The role of kisspeptin signalling in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis--current perspective. *Endokrynol Pol*. 2015;66(6):534-47.
81. Reynolds RM, Logie JJ, Roseweir AK, McKnight AJ, Millar RP. A role for kisspeptins in pregnancy: facts and speculations. *Reproduction*. 2009;138(1):1–7.
82. Park DW, Lee SK, Hong SR, Han AR, Kwak-Kim J, Yang KM. Expression of Kisspeptin and its receptor GPR54 in the first trimester trophoblast of women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(2):132–9.
83. Brown RS, Herbison AE, Grattan DR. Prolactin regulation of kisspeptin neurones in the mouse brain and its role in the lactation-induced suppression of kisspeptin expression. *J Neuroendocrinol*. 2014;26(12):898–908.
84. Grattan DR. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: The hypothalamo-prolactin axis. *J Endocrinol*. 2015;226(2):T101–22.
85. Rance NE. Menopause and the human hypothalamus: evidence for the role of kisspeptin/neurokinin B neurons in the regulation of estrogen negative feedback. *Peptides*. 2009;30(1):111–22.
86. Gaytan F, Garcia-Galiano D, Dorfman MD, Manfredi-Lozano M, Castellano JM, Dissen GA, Ojeda SR, TenaSempere M: Kisspeptin receptor haplo-insufficiency causes premature ovarian failure despite preserved gonadotropin secretion. *Endocrinology* 2014;155:3088-3097.

87. Terao Y¹, Kumano S, Takatsu Y, Hattori M, Nishimura A, Ohtaki T, Shintani Y. Expression of KiSS-1, a metastasis suppressor gene, in trophoblast giant cells of the rat placenta. *Biochim Biophys Acta*. 2004 May 25;1678(2-3):102-10.
88. Cejudo Roman A¹, Pinto FM, Dorta I, Almeida TA, Hernández M, Illanes M, Tena-Sempere M, Candenas L. Analysis of the expression of neurokinin B, kisspeptin, and their cognate receptors NK3R and KISS1R in the human female genital tract. *Fertil Steril*. 2012 May;97(5):1213-9.
89. Bhattacharya M, Babwah AV. Kisspeptin: beyond the brain. *Endocrinology*. 2015;156(4):1218-1227.
90. Zhang P¹, Tang M², Zhong T³, Lin Y⁴, Zong T¹, Zhong C¹, Zhang B¹, Ren M¹, Kuang H¹. Expression and function of kisspeptin during mouse decidualization. *PLoS One*. 2014 May 15;9(5):e97647.
91. Hameed S¹, Jayasena CN, Dhillon WS. Kisspeptin and fertility. *J Endocrinol*. 2011 Feb;208(2):97-105. doi: 10.1677/JOE-10-0265.
92. Beck-Peccoz P, Persani L. Premature ovarian failure. *Orphanet J Rare Dis* 2006;1:9.
93. Williams SA, Stanley P. Premature ovarian failure in mice with oocytes lacking core 1-derived O-glycans and complex N-glycans. *Endocrinology*. 2011;152:1057–1066.
94. Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, Christofolini DM, Barbosa CP, Crandall KA, Bianco B. Kisspeptin/GPR54 System: What Do We Know About Its Role in Human Reproduction? *Cell Physiol Biochem*. 2018;49(4):1259-1276.
95. Ohtaki T, Shintani Y, Honda SIS, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, et al.: Metastasis suppressor gene Kiss-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 2001;411:613–617.
96. d'Anglemont de Tassigny X, Ackroyd KJ, Chatzidaki EE, Colledge WH: Kisspeptin Signaling Is Required for Peripheral But Not Central Stimulation of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons by NMDA. *J Neurosci* 2010;30:8581–8590.
97. Oakley AE, Clifton DK, Steiner RA: Kisspeptin signaling in the brain. *Endocr Rev* 2009;30:713–743.

98. Navarro VM, Fernández-Fernández R, Castellano JM, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, Gaytan F, Aguilar E, Pinilla L, Dieguez C, Tena-Sempere M: 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.
99. Plant TM, Ramaswamy S, DiPietro MJ: Repetitive Activation of Hypothalamic G Protein-Coupled Receptor 54 with Intravenous Pulses of Kisspeptin in the Juvenile Monkey (*Macaca mulatta*) Elicits a Sustained Train of Gonadotropin-Releasing Hormone Discharges. *Endocrinology* 2006;147:1007–1013.
100. Kanasaki H, Purwana IN, Oride A, Mijiddorj T, Sukhbaatar U, Miyazaki K. Circulating kisspeptin and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) do not correlate with gonadotropin serum levels. *Gynecol Endocrinol.* 2013 Jun;29(6):583-7.
101. Çelik F, Belviranlı M, Okudan N. Circulating levels of leptin, nesfatin-1 and kisspeptin in postmenopausal obese women. *Arch Physiol Biochem.* 2016 Oct;122(4):195-199.
102. Roa J, Vigo E, Castellano JM, Gaytan F, Garcia-Galiano D, Navarro VM, et al. Follicle-stimulating hormone responses to kisspeptin in the female rat at the preovulatory period: modulation by estrogen and progesterone receptors. *Endocrinology* 2008;149:5783–90.
103. Peng J, Xu H, Yang B, et al. Plasma levels of kisspeptins in postmenopausal Chinese women do not show substantial elevation. *Peptides.* 2010 Dec;31(12):2255-8.
104. Yin W, Gore AC. Neuroendocrine control of reproductive aging: roles of GnRH neurons. *Reproduction* 2006;131:403–14.
105. Garcia-Ortega J, Pinto FM, Fernandez-Sanchez M, et al. Expression of neurokinin B/NK3 receptor and kisspeptin/KISS1 receptor in human granulosa cells. *Hum Reprod.* 2014;29(12):2736-2746.
106. Garcia-Ortega J, Pinto FM, Prados N, et al. Expression of tachykinins and tachykinin receptors and interaction with kisspeptin in human granulosa and cumulus cells. *Biol Reprod.* 2016;94(6): 124.
107. Broer SL, Broekmans FJ, Laven JS, Fauser BC. Anti-Müllerian hormone: ovarian reserve testing and its potential clinical implications. *Hum Reprod Update.* 2014 Sep-Oct;20(5):688-701.

108. Hu KL, Zhao H, Min Z, He Y, Li T, Zhen X, Ren Y, Chang HM, Yu Y, Li R. Increased Expression of KISS1 and KISS1 Receptor in Human Granulosa Lutein Cells-Potential Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome. *Reprod Sci.* 2018 Dec 30;1933719118818899.
109. Fernandois D, Na E, Cuevas F, Cruz G, Lara HE, Paredes AH. Kisspeptin is involved in ovarian follicular development during aging in rats. *J Endocrinol.* 2016;228(3):161-170.
110. Kolodziejcki PA, Pruszyńska-Oszmalek E, Korek E, et al. Serum levels of spexin and kisspeptin negatively correlate with obesity and insulin resistance in women. *Physiol Res.* 2018;67(1):45-56.
111. Panidis D, Rousso D, Koliakos G, et al. Plasma metastatin levels are negatively correlated with insulin resistance and free androgens in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2006;85(6): 1778-1783.