

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI  
Prof. Dr. Necla ÇEVİK

59620

PUBERTAL GELİŞİM İLE İDRAR GONADOTROPİNLERİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ  
DR. Adem AYDIN

TEZ YÖNETİCİSİ  
Prof. Atilla BÜYÜKGEBİZ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MENFİZİ

İZMİR-1997

## TEŐEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince deneyim ve bilgilerini aktararak yetiŐmemde büyük emeği olan, hiçbir konuda yardım ve desteğini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı BaŐkanı Sayın Prof. Dr. Necla ÇEVİK ve tüm öğretim üyelerine, tez konumun seçimi ve çalışmalarımın yürütülmesinde değerli katkı ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Prof. Dr. Atilla BÜYÜKGEBİZ'e, verilerin toplanmasında ve değerlendirilmesinde yardımcı olan Helsinki Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden Dr. And DEMİR'e ve Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrin Laboratuvarı çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Adem AYDIN

## KISALTMALAR

<b>ABD</b>	<b>Amerika Birleşik Devletleri</b>
<b>B</b>	<b>Meme(Breast) Gelişimi</b>
<b>BUN</b>	<b>Kan Üre Azotu(Blood Urea Nitrogen)</b>
<b>DHA</b>	<b>Dihidroepiandesteron</b>
<b>DHT</b>	<b>Dihidrotestosteron</b>
<b>DHAS</b>	<b>Dihidroepiandesteron Sülfat</b>
<b>EGF</b>	<b>Endodermal Büyüme(Growth) Faktörü</b>
<b>FMV</b>	<b>Sabah İlk İşeme(First Morning Voiding)</b>
<b>FSH</b>	<b>Folikül Stimülant Hormon</b>
<b>G</b>	<b>Genital Evre</b>
<b>GnRH</b>	<b>Gonadotropin Salgılatıcı(Releasing) Hormon</b>
<b>HCG</b>	<b>İnsan Koryonik Gonadotropini</b>
<b>IGF</b>	<b>İnsulin Benzeri Büyüme Faktörü</b>
<b>IFMA</b>	<b>İmmüno Fluorometrik Assay</b>
<b>IRMA</b>	<b>İmmünoradyometrik Assay</b>
<b>i-FSH</b>	<b>İdrar Folikül Stimülant Hormonu</b>
<b>i-LH</b>	<b>İdrar Luteinizan Hormon</b>
<b>LIA</b>	<b>Lüminometrik İmmünoassay</b>
<b>LH</b>	<b>Luteinizan Hormon</b>
<b>M</b>	<b>Menarş</b>
<b>NANA</b>	<b>N-asetil nöraminik asit</b>
<b>PH</b>	<b>Pubik Kılınma(Hair)</b>
<b>PHV</b>	<b>Pik Büyüme Hızı(Peak</b>
<b>RIA</b>	<b>Radyoimmünoassay</b>
<b>s-FSH</b>	<b>Serum Folikül Stimülant Hormonu</b>
<b>s-LH</b>	<b>Serum Luteinizan Hormon</b>
<b>SD</b>	<b>Standart Deviasyon</b>
<b>TGF</b>	<b>Transförmasyon İndüsyon Faktörü</b>
<b>TVI</b>	<b>Testis Volüm İndeksi</b>
<b>WHO</b>	<b>Dünya Sağlık Teşkilatı</b>

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
<b>01. GİRİŞ</b> .....	01
<b>02. AMAÇ</b> .....	03
<b>03. GENEL BİLGİLER</b> .....	04
<b>03.01. Puberte tanımı</b> .....	04
<b>03.02 Puberte yaşı</b> .....	04
<b>03.03. Pubertede oluşan endokrin değişiklikler</b> .....	07
<b>03.03.1 Puberte fizyolojisi</b> .....	07
<b>03.03.2 Hipotalamik kontrol</b> .....	07
<b>03.03.3 Hipofiz sistemi</b> .....	09
<b>03.03.4 Testis</b> .....	14
<b>03.03.04.1 Testiküler gelişme</b> .....	14
<b>03.03.04.2 Testiküler fonksiyonların düzenlenmesi</b> .....	15
<b>03.03.04.3 Testosteron sentezinin kontrolü</b> .....	16
<b>03.03.5 Overler</b> .....	17
<b>03.03.05.1 Fötal over</b> .....	17
<b>03.03.05.2 Çocukluk çağında over</b> .....	19
<b>03.03.05.3 Erişkin overi</b> .....	19
<b>03.03.05.4 Menstürüel siklus</b> .....	21
<b>03.04 Pubertede oluşan fiziksel değişiklikler</b> .....	22
<b>03.04.1 Erkeklerde görülen sekonder seks karakteri değişimleri</b> .....	23
<b>03.04.01.1 Boy artış hızı</b> .....	23
<b>03.04.01.2 Genital değişimler</b> .....	23
<b>03.04.01.3 Seksüel kıllanma</b> .....	28
<b>03.04.01.4 Kas kitlesi ve vücut kompozisyonu</b> .....	28
<b>03.04.01.5 Fertilite ve ejakülasyon</b> .....	29

03.04.01.6 Ses değişikliği.....	29
03.04.2 Kızlarda görülen sekonder seks karakteri değişimleri.....	29
03.04.02.1 Büyüme hızı.....	32
03.04.02.2 Meme Gelişimi.....	32
03.04.02.3 Pubertede iç ve dış genital organdaki değişimler..	34
03.04.02.4 Seksüel kıllanma ve akne.....	34
03.04.02.5 Kas kitlesi ve vücut oranları.....	34
03.04.02.6 Menarş fertilite ve ovulatuvar siklus.....	35
03. 05 İdrar gonadotropinlerinin ölçümü.....	36
<b>04. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>38</b>
04.1 Protokol.....	38
04.2 Örneklerin çalışılması.....	39
04.3 Test işleminin ilkeleri.....	41
04.4 İdrarda kreatinin ölçümü.....	41
04.5 İstatistik.....	43
<b>05. BULGULAR.....</b>	<b>44</b>
05.1 Kız ve erkeklerin ortalama yaşları arasındaki ilişkiler.....	44
05.2 Erkek ve kızlarda s-LH ve s-FSH ile i-LH ve i-FSH arasındaki ilişkiler.....	46
<b>06. TARTIŞMA.....</b>	<b>54</b>
<b>07. SONUÇLAR.....</b>	<b>58</b>
<b>08. ÖZET.....</b>	<b>59</b>
<b>09. KAYNAKLAR.....</b>	<b>61</b>

## TABLolar

	<b>Sayfa no</b>
Tablo 1 Testis gelişimi ile pubertal evre ilişkisi	28
Tablo 2 Tanner evrelerine göre meme başı değerleri	33
Tablo 3 Erkek ve kızlarda normal serum LH ve FSH değerleri	42
Tablo 4 Tanner evrelerine göre kız(meme gelişimi) ve erkeklerin(testis gelişimi) ortalama yaşları	45
Tablo 5 Tanner evrelerine (pubik ve aksiller kıllanma) göre kızve erkeklerin ortalama yaşları	46
Tablo 6 Kızlarda ortalama serum ve idrar LH ve FSH değerlerinin karşılaştırılması	47
Tablo 7 Erkeklerde ortalama serum ve idrar LH ve FSH değerlerinin karşılaştırılması	48
Tablo 8 Tanner evresi ve cinsiyete göre idrar LH/kreatinin ve FSH/kreatinin değerleri	49

## ŞEKİLLER

	<b>Sayfa no</b>
Şekil 1 Değişik ülkelerde 1840-1978 arasında menarj yaşındaki değişim	6
Şekil 2 Gonadotropin serbestleştirici hormon tarafından gonadotropin sekresyonunun düzenlenmesi	8
Şekil 3 Erken çocukluk dönemi, prepubertal ve pubertede FSH ve LH'nın pulsatil salgıdaki değişiklikler	11
Şekil 4 Erkeklerde ortalama serum testesteron ve gonadotropinlerin (FSH ve LH) puberte basamaklarına göre değişimi	13
Şekil 5 Kızlarda ortalama plazma östrodiol ve gonadotropinlerin (FSH ve LH) puberte basamaklarına göre değişimi	18
Şekil 6 Puberte boyunca erkeklerde oluşan ardışık sekonder seks karakteri değişimleri	24

Şekil 7	Erkeklerde genital gelişim ve pubik kıllanma evreleri	25
Şekil 8	Batı Avrupa erkeklerinde puberte basamaklarına göre sekonder seks karakteri değişimleri	26
Şekil 9	(a)Prader orşimetresi, (b) değişik yaş gruplarına göre testis hacim persentilleri	27
Şekil 10	Kızlarda meme gelişimi evreleri	30
Şekil 11	Kızlarda genital gelişim ve pubik kıllanma evreleri	30
Şekil 12	Batı Avrupa kızlarında puberte basamaklarına göre sekonder seks karakteri değişimleri	31
Şekil 13	Puberte boyunca kızlarda oluşan ardışık sekonder seks karakteri değişimleri	32
Şekil 14	Erkeklerin s- FSH ve FSH/kreatinin ve s-LH ve LH/kreatinin oranları arasındaki ilişki	50
Şekil 15	Kızların s- FSH ve FSH/kreatininve s-LH ve LH/kreatinin oranları arasındaki ilişki	50
Şekil 16	Erkeklerin s- FSH ve i-FSH (a) ve s-LH ve i-LH(b) oranları arasındaki ilişki	51
Şekil 17	Kızların s- FSH ve i-FSH (a) ve s-LH ve i-LH(b) oranları arasındaki ilişki	51
Şekil 18	Tanner evrelerine göre serum ve idrar gonadotropinlerde oluşan değişim	53

## 01.GİRİŞ

İdrarda gonadotropinlerin ölçülebileceği, ilk kez Fitscher ve Clayton (1) tarafından 1960 yılında tanımlanmıştır. İlk yıllarda yapılan çalışmalarda; idrar gonadotropinlerini ölçmek için bioassay yöntemler kullanılırken(1,2) daha sonraki yıllarda daha duyarlı yöntem olan *Radyoimmunoassay*(RIA) yöntemi kullanılmaya başlamıştır(3). 1970 yılında Rifkind ve arkadaşları(4) RIA yöntemini kullanarak idrar *Folikül Stimülan Hormon*(FSH) ve *Luteinizan Hormon*(LH)'u kantitatif olarak ölçmüşlerdir. Günümüzde RIA yönteminin serum ve idrar gonadotropinlerinin daha düşük düzeyde olduğu prepubertal dönemde; idrar gonadotropinlerini ayırtılamaması ve bazen düşük hormon düzeylerinde yapılan ölçümlerde diğer hormonlarla nonspesifik interferansın görülmesi nedeniyle, bazı gelişmiş ülkelerde yeni yöntemler kullanılmaya başlamıştır(5, 6-9). Son yıllarda idrarda ileri derecede düşük düzeyde olan büyüme hormonu ve prepubertal dönemde düşük düzeyde olan idrar gonadotropinlerini ölçmek için, daha duyarlı olan *Lumonometrik-Immuno assay*(LIA), ileri derecede duyarlı olan *Immuno-Radyometrik assay*(IRMA) ve *Immuno-Flourometrik assay*(IFMA) yöntemi kullanılmaktadır(5, 9 -14) İlk yıllarda, idrar gonadotropinlerinin ölçümü için, 24 saatlik idrar örnekleri kullanılırken, 1980 yılında Bourguignon ve arkadaşları(15) geniş kapsamlı bir çalışmada sabah alınan ilk idrarın 24 saatlik idrara paralel sonuç gösterdiğini saptamışlardır. Özellikle çocuklarda, 24 saatlik idrar toplama zorluğu ve yeterli idrar toplanamaması nedeniyle sabah ilk işeme(*First Morning Voiding*: FMV) idrarından, gonadotropinlerin ölçümü, aileye zaman ve uyum kazandırırken, öte yandan güvenli ve doğru tanının ortaya çıkmasını sağlar. 1987 yılında, Girard ve Hadziselimmoviç(16) FMV kullanılarak pubertal bozuklukların ve hastalıkların ayırıcı



tanısının konulabileceğini rapor ettiler. Daha sonra Maeseka ve arkadaşları(17-18) FMV idrarında FSH ve LH ölçümünün 24 saatlik idrarda gonadotropinlerin ölçümü ile korelasyon gösterdiğini bildirdiler.

Prepubertal dönemde düşük düzeylerde bulunan gonadotropinler pubertal basamaklar boyunca değişim gösterir. Gerek kızlarda gerekse erkeklerde bu değişimi göstermek için değişik çalışmalar yapılmış ve Tanner evrelemesine göre, her evrede görülen sekonder seks karakteri değişimi ile serum gonadotropin düzeylerinin artımı arasındaki ilişki araştırılmıştır.

Pubertal gelişim evrelerini ve bu evrelere göre pubertal bozuklukların izleminin yapılabileceğini ilk kez; Tanner ve arkadaşları(19) tanımlamışlardır. Günümüze kadar bu alanda yapılan çalışmalar, puberte yaşının her on yılda 2-3 ay azalarak süregeldiğini, örneğin 1840 yılında ortalama olarak menarş yaşı 17 yaş civarında iken, günümüze gelindiğinde 12 yaş civarına indiği rapor edilmiştir(20-21). Ülkemizde de pubertal evrelerin ortalama başlangıç yaşı ile ilgili çalışmalar Neyzi ve arkadaşları(22-23) ile Büyükgebiz ve Kınık (24) tarafından yapılmıştır.

Çalışmamız, prepubertal ve pubertal evrelerde serum ve idrar LH ve FSH'sında ortaya çıkan değişimler ile benzer olarak aynı evrelerde, serum ve idrar gonadotropinleri arasındaki ilişkiyi araştırmaktadır.

Bu araştırmada, FMV idrarında; *idrara Luteinizan hormonu*(i-LH) ve *idrara Follikül stimulan Hormonu*(i-FSH) ölçülerek, serum düzeyleri ile aralarındaki ilişki araştırılmış ve alternatif olarak, pubertal değişiklik ve bozuklukların izlenmesinde idrar gonadotropinlerinin kullanılabilirliği irdelenmiştir.

## 02.AMAÇ

1. Çocukluk çağında FMV idrarında gonadotropin düzeylerini ölçmek.
2. Pubertal evrelere göre, idrara gonadotropinlerin atılımı arasındaki farklılıkları belirlemek.
3. Pubertal evrelere göre, serum ve idrar gonadotropinler arasındaki ilişkiyi araştırmak.
4. Ülkemizde 1970'li yıllardan sonra puberte başlangıcında olan yüzyılın eğilimini(pozitif secular trend) araştırmak.

Amaç; eğer sonuçta, *serum Luteinizan Hormon(s-LH)* ve *serum Follikül Stimulan Hormon(s-FSH)* değerleri ile sırasıyla *i-LH* ve *i-FSH* değerleri arasında ilişki saptanırsa, prepubertal ve pubertal bozuklukların izleminde, serum ölçümlerine alternatif olarak, daha pratik ve kolay uygulanabilir bir yöntem olması nedeniyle; *i-LH* ve *i-FSH* ölçümlerinin kullanılması hipotezini ileri sürmektir.

## 03.GENEL BİLGİLER

### 3.01. TANIM:

Puberte(ergenlik) seksüel gelişmenin tamamlandığı ve bireyin tam bir seksüel gelişim kazanması sonucu tam bir üreme kapasitesinin ortaya çıktığı bir süreçtir. Puberte ve adolescence( adölesans =gençlik/ büyüme çağı) zaman zaman bir biri yerine kullanılmakla birlikte iki terim arasında bazı önemli farklılıklar vardır. Biyolojik açıdan bakıldığında puberte, bireyin fizyolojik olarak seksüel üreme yeteneğinin ortaya çıktığı fiziksel olgunlaşma basamağıdır. Buna karşın adölesans, fizyolojik ve psikolojik açıdan çocukluk çağının sona erip erişkinlik çağına geçişi belirler(25).

Seksüel gelişmenin ilk bulgusu kızlarda meme gelişimi, erkeklerde ise testis büyümesi ile beraber skrotum derisinde kızarma ve kalınlaşmadır.

### 3.02. PUBERTE YAŞI:

Sekonder seks karakterlerinin kızlarda sekiz yaşından önce erkeklerde dokuz yaşından önce başlamasına erken puberte(puberte prekoks) denir(25). Öte yandan kızların onüç buçuk, erkeklerin de ondört yaşını geçmiş olmalarına karşın herhangi bir sekonder seks karakteri değişimi göstermemesi ya da kızlarda ilk pubertal bulgudan itibaren ilk adet tarihine kadar beş yıldan uzun süre geçmesi, erkeklerde de genital gelişimin beş yıl içinde tamamlanmamış olması durumunda gecikmiş puberteden söz edilir(25).

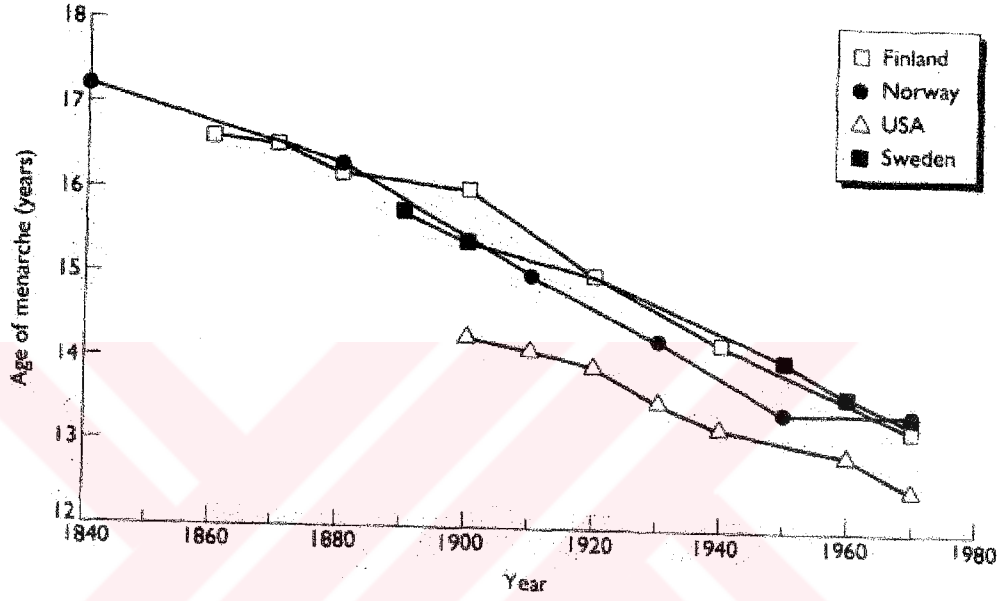
Ortalama puberte yaşı kişinin ve içinde yaşadığı toplumun sosyo-ekonomik düzeyiyle yakından ilişkilidir. Günümüzde puberte başlangıç yaşı, geçmiş yüzyıllarla

karşılaştırıldığında daha erkendir. Son 100- 150 yılda, *Amerika Birleşik Devletleri*(ABD) ve gelişmiş avrupa ülkelerinde yapılan çalışmalarda, ortalama menarş görülme yaşının her on yılda 2-3 ay azalarak; 1840'lı yıllarda ortalama 17 yaşında iken, günümüzde 11-12 yaş düzeyine indiği bildirilmektedir(Şekil -1) (20, 21). Bu eğilim, ülkelerin sosyo-ekonomik, beslenme ve genel sağlık durumu ile ilişkilendirilmektedir. Örneğin; 1870-1930 yılları arasında göçebelik yaşamı sürdürülen Norveç'te menarşın daha erken yaşta görülmesinde bir yavaşlama eğilimi dikkati çekmekteyken, ikinci dünya savaşının sona ermesi sonrasında, sanayide büyük atılımın gerçekleştiği 1940'lı yıllardan sonra ise eğilimde hızlanma gözlenmektedir (Şekil -1). Bu eğilime, yüzyılın eğilimi( pozitif secular trend) denilmektedir. Son zamanlarda toplanan National Center for Health Statistics verilerine göre ABD'de ortalama menarş yaşı 12.8 yıldır(26). Ülkemizde ortalama menarş başlama yaşı 12.5 'dur(23).

Beslenme durumu ile puberte başlangıcı arasında da belirgin bir ilişki vardır. Normalin %30'u kadar fazla kilolu olan orta obeslerde menarş yaşı daha erken olurken patolojik obeslerde geçikmiş menarş görülmektedir(28). Kronik hastalığı ve malnütrisyonu olan hastalarda ve sürekli aktif ağır spor yapan genç sporcularda gecikmiş puberte ya da puberte duraklaması(arrested puberty) görülmektedir(28). Benzer olarak; inaktif, yatağa bağımlı mental retarde ve vücut yağ dokusu az bireylerde menarş yaşı; daha aktif ve vücut yağ dokusu normale yakın bireylere göre daha geç olarak görülmektedir(29). Menarşın olabilmesi için vücut yağ dokusunun, vücut ağırlığının %17'sinden az olmaması gerektiği ileri sürülmüştür(30).

Puberte başlangıcı için çevresel ve beslenme yanında genetik etmenler de sorumludur. Aynı sosyo-ekonomik çevrede yaşayıp benzer beslenme alışkanlıkları olan zenci kızlar,

beyaz kızlarla karşılaştırıldığında; zencilerde menarj yaşı daha erken bulunmuştur(31). Puberte başlangıç yaşı, genetik zeminde değişik sosyo-ekonomik, çevresel, beslenme ve genel sağlığı ilgilendiren etmenler tarafından etkilenmektedir.



Şekil-1 Değişik ülkelerde 1840-1978 arasında menarj yaşındaki değişim (Tanner & Evelenth'den modifiye edilmiştir.(31).

### **3.03. PUBERTEDE OLUŞAN ENDOKRİN DEĞİŞİKLİKLER**

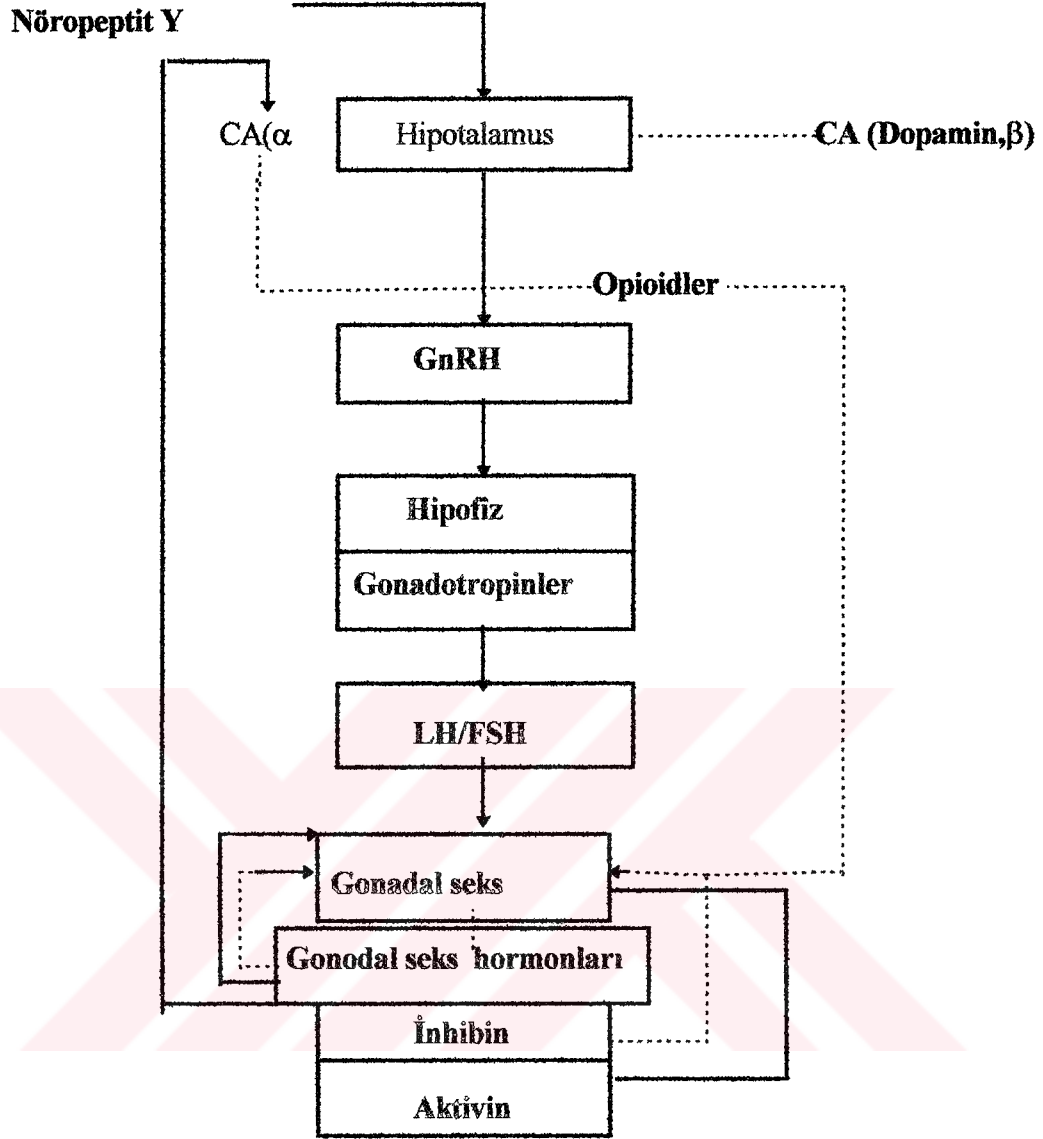
#### **3.03 01. PUBERTE FİZYOLOJİSİ:**

Pubertede gerek erkekte, gerek kadında sekonder seks karakterleri olarak bilinen bir dizi fiziksel değişiklikler ve bu değişiklikler sonucu olarak ya da bu değişikliklerden bağımsız olarak psiko-sosyal uyum sorunları ortaya çıkar. Burada oluşan fiziksel değişimlerden ana olarak sorumlu olan sistem; erkekte, hipotalamo-hipofizer testis aksı ve kızlarda, hipotalamo-hipofizer over aksı sistemidir. Bu nedenle, pubertede gözlenen fiziksel değişiklikler ve üreme organlarında oluşan büyüme ve gelişmenin anlaşılabilmesi için üreme fizyolojisi ve pubertede bu sistemde ortaya çıkan endokrin değişiklikler iyi bilinmelidir.

#### **3.03.02. HİPOTALAMİK KONTROL:**

Hipotalamustan salgılanan gonadotropin serbestleştirici hormon (*Gonadotropin Releasing Hormon: GnRH*) 10 amino asitlik bir dekaeptit(pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-amide) olup, hipotalamusun nörosekratuvar hücrelerinde sentezlenir ve hipotalamo-hipofizer portal sisteme pulsatil olarak salgılanır(32).

GnRH ön hipofizden LH ve FSH salgılanmasını düzenler(Şekil-2). GnRH kodlayan gen sekizinci kromozomun kısa kolunda bulunur. Ayrıca GnRH'un olfaktör bölgeden medial bazal hipotalamusa göçünü, X kromozomunun uzun kolunda Xp22.3 bölgesinde bulunan KAL geni kodlar. Bu genin olmaması durumunda Kallman sendromu oluşur (33). Hayvan çalışmaları, GnRH'un epizodik boluslar halinde salındığını ve yarı ömrünün 2-4 dakika olduğunu göstermiştir (34). Salınım sıklığı cinsiyet, gelişim evresi ve menstüriyel evreye göre farklılık gösterir.



Şekil- 2: Gonadotropin serbestleştirici hormon tarafından gonadotropin sekresyonunun düzenlenmesi, katekolaminlerin(CA) farklı reseptörler üzerinden iki yönlü etkisi, opioidlerin, gonadal seks hormonların inhibitör ve eksitator etkileri — : aktivasyon, ..... : inhibisyon.

Hipotalamustan pulsatil GnRH salınımı; değişik nörotransmitterler, peptiderjik nöromodulatörler ve nöroekstatör amino asitler etkisinde koordineli intrinsek bir düzenlenme gösterir (35). Örneğin, sinapslardan salınan noradrenalin ve adrenalin GnRH salınımını artırırken, dopamin, serotonin ve  $\beta$  endorfin gibi opioidler salınımını azaltır. Testesteron ve progesteron pulsatil salınım sıklığını azaltır, opioid peptitler ve kortikotropin-serbestleştirici hormon GnRH salınımını azaltır(36). *Gama Amino Bütirik*

*Asit*(GABA) içeren nöronlar GnRH salan nöronlara, hem direkt etki ile hem de nöradrenerjik lifler aracılığıyla inhibitör etki yapar(37-38)

GnRH insanda özellikle medio-bazal hipotalamusta ve anterior preoptik bölgede bulunmakla beraber, aynı zamanda hipokampus, cingulate korteks ve olfaktör bölgede de bulunur(36). Ayrıca süte sekrete edilir ve plesantada da saptanmıştır. Adult hayvanlarda iki tür GnRH salgılayan nöron tanımlanmıştır. Bu nöronların çoğunun salgısı, hipofiz median eminens bölgesine aksonal nörovasküler ileti yolu ile ulaşarak LH ve FSH salgılatırken, bir grup hücrenin salgısı assenden projeksiyon yolu ile telensefalon ve ortabeyin bölgesine ulaşarak seksüel davranış oluşmasını kontrol eder. Maymunlarda yapılan deney hayvanı çalışmalarında medio-bazal nükleusun ablasyonunun menstürasyonu durdurmadığı, arkuate nükleusun ablasyonunun pulsatil gonadotropin salınımını bozduğu ve değişik sıklıkta GnRH verilmesinin LH/FSH oranını bozduğu gösterilmiş ve bu nedenle, arkuat nükleusun GnRH kontrolunda daha önemli olduğunu düşünülmüştür(39).

GnRH, gonadotropin salgılayan hipofiz hücrelerinin hücre yüzey membran reseptörlerine bağlanır ve peptid reseptör mekanizmalarında olduğu gibi; intraselüler kalsiyum salınımını artırarak ve protein C kinaz fosforilizasyonunu sağlayarak etki sağlar(40).

### **3.03.03. HİPOFİZ SİSTEMİ**

Ön hipofiz tarafından salgılanılan iki gonadotropin, kadınlarda overlerin, erkeklerde testislerin gamatojenik ve endokrin etkilerini düzenler. Ön hipofizden salgılanan; FSH ve LH olarak bilinen glikoprotein yapısında bu iki hormondan başka, gebelerde plesantadan salgılanılan *Human Koryonik Gonadotropin* (HCG) ve gebe kısırakların serumundan elde



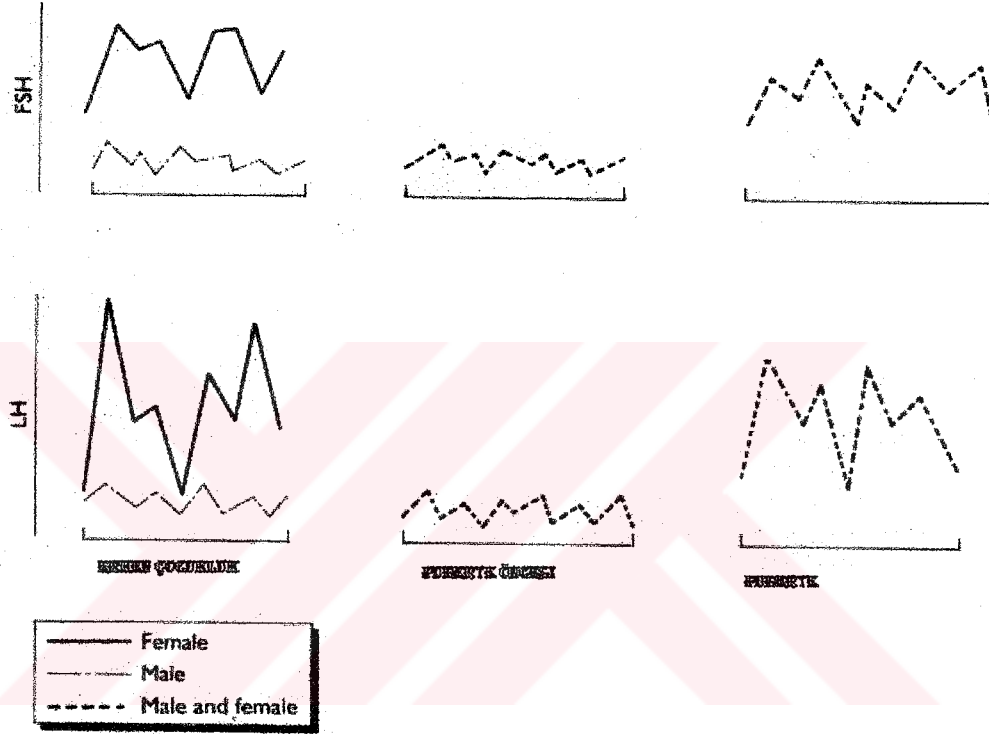
edilen gebe kısrak serumu gonadotropini (*Pregnant Mares Serum Gonadotropine*, PMSG) olmak üzere iki gonadotropin daha bulunur(37).

Gonadotropinler glikoprotein yapısında ve büyük molekül ağırlıklı hormonlardır. Moleküllerinde bulunan amino asitler, herbiri birer peptit zincirinden oluşan iki alt birim halinde düzenlenmiş olup bunlar,  $\alpha$  ve  $\beta$  alt birimleri olarak bilinir. FSH'nin  $\alpha$  zincirinde 89 amino asit, LH'nin  $\alpha$  zincirinde 89 amino asit varken her iki gonadotropinin  $\beta$  zincirinde 115'er tane amino asit bulunur(41). Bu hormonların  $\alpha$  alt birimlerinde bulunan amino asit sayısı eşitse de sıralaması tamamen aynı değildir. Bununla birlikte  $\alpha$  alt birimlerinin değiştirilmesi hormon aktivitesini etkilemez. FSH ve LH'nin  $\beta$  alt birimleri, molekülün biyolojik ve immunolojik etki için spesifik kısımlarını oluşturur. Her ne kadar amino asitlerin toplam sayısı eşit ise de, her bir amino asidin bireysel sayısı ve sıralanışı farklıdır. Karbonhidrat grupları, alt grupların peptit zincirlerine bir ya da birkaç noktadan zayıf bağlarla bağlanan heksozlar, heksoaminler ve sialik asit(*N-asetil-Nöraminik Asit*: NANA) gruplarından oluşur(41).

FSH, LH, tiroid stimulan hormon ve HCG'nin alfa zincirleri benzer olup genetik kodlanma bölgesi 6. kromozom üzerinde, LH- $\beta$  alt biriminini kodlayan gen 19q 13.32 ve FSH  $\beta$  alt biriminini kodlayan gen 11p 13 bölgesinde bulunur(42).

Ön hipofizden GnRH pulsatil salgısına bağlı olarak aynı hücreler tarafından FSH ve LH pulsatil olarak salgılanır. Erken çocukluk dönemi ve pubertal dönemde pulsatil salgınım varken; prepubertal dönemde GnRH'nun düşük miktarda devamı salgılanmasına bağlı olarak pulsatil salgınım olmayıp, düşük düzeyde devamlı salgılanma vardır(Şekil-3). Ancak son yıllarda bu dönemde de pulsatil salgınım olduğu gösterilmiştir. GnRH'nun

pulsatil salınımının yeterli düzeyde ulaşması ile pubertenin başladığına inanılır. İnaktif gonadotropik hücreler herhangi bir GnRH'nun sekresyonunu bozan hastalık durumunda küçük çaplı, Turner sendromu gibi gonadları olmadığı durumda geniş çaplı ve belirgin endoplazmik retikuluma sahiptir(43).



Şekil.3: Erken çocukluk dönemi, prepubertal ve pubertede FSH ve LH'nin pulsatil salımdaki değişiklikler. Erken çocukluk döneminde kız ve erkekler arası belirgin seks farkı vardır. Daha sonraki dönemlerde gonadotropin salgılanması dalgalanma gösterir(29).

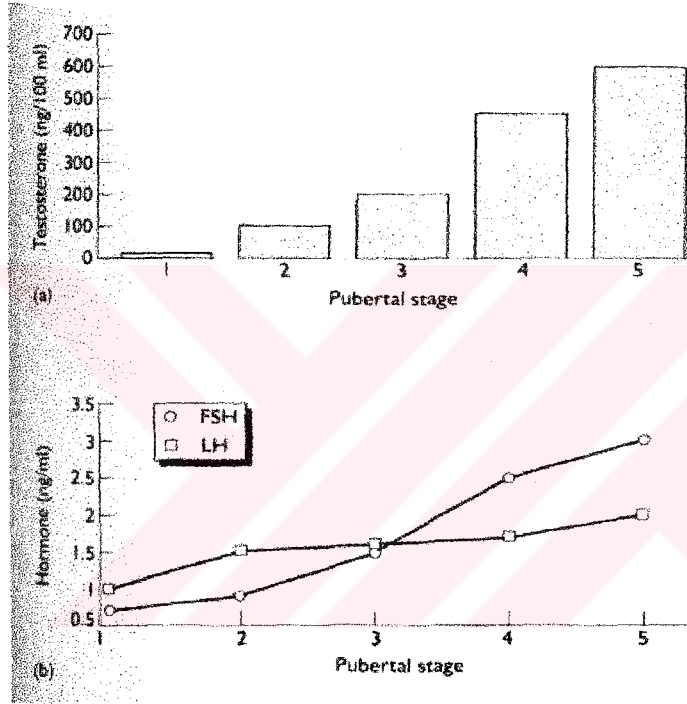
Ön hipofizin gonadotrop hücreleri uygun uyarana karşısında depoladıkları ve yeni sentez etmekte oldukları FSH ve LH'ı sistemik kan dolaşımına salar. Periferik dolaşımında FSH ve LH monomerik formda bulunur(44). GnRH'a yüksek yanıt vermeleri ve yarı ömürlerinin kısa oluşu nedeniyle LH konsantrasyonu hayli pulsatil iken, FSH konsantrasyonu daha stabil kalır ve her LH piki, GnRH pikini baskılar(45). Yetişkin erkeklerde LH 90-120 dakikada bir pik yaparken, yetişkin kadınlarda pik sıklığı

menstürel siklus boyunca değişiklik gösterir. Yetişkin adet gören kadınlarda geç folliküler fazda saatlik hızlı pikler yaparken luteal fazda östrojen ve progesteronun birlikte negatif feed back etkisine bağlı olarak çok daha yavaş pik gösterir.

FSH ve LH periferik kan dolaşımından primer olarak böbrekler ve karaciğer tarafından atılır. Peptit yapıdaki hormonların renal metabolizması tam olarak anlaşılamamıştır. Bununla birlikte gliko-peptit yapılı olan FSH ve LH'nın major atılım yolu böbrekler olarak kabul edilir. Gonadlar gonadotropinlerin primer etki yeri olmasına karşın, hormon klerensindeki yeri minimaldir. Hayvan deneyleri, LH'in % 95 oranında ve FSH'nın ise %78 oranında böbreklerden atıldığını göstermiştir(46). Genel olarak glikoprotein hormonların renal atılımı glikolize olmayan polipeptit hormonlarla karşılaştırıldığında daha yavaştır. FSH ve LH'in %10-20'si biyolojik olarak aktif formda idrarla sekrete edilerek atılır. Immuno reaktif yarılanma ömrü sırasıyla FSH için  $4. \pm 0.7$  saat LH için  $46.7 \pm 6.8$  dakikadır(47,48) . İki hormonun metabolik klirensi de farklı olup sırasıyla FSH için, 6-14 ml/dak m<sup>2</sup> ve LH için 34ml/dak m<sup>2</sup> dir. Bu farklılık; aynı hipotalamik hormon tarafından iki hormonun farklı serum düzeylerinin bulunmasını açıklar.

Serum FSH ve LH düzeylerinde pubertal basamaklara göre erkek ve kızlarda değişiklikler görülür. Erkeklerde Tanner evresine göre saptanan FSH ve LH değişimi şekil-3'de gösterilmiştir. FSH düzeyi evre I'den evre V'e gidildikçe progresif olarak artmasına karşın, LH düzeyi ise bu artışı gösterirken, evre- II evre IV arasında bir duraklama göstererek artar (Şekil-4b). Kızlarda da gerek FSH, gerekse LH düzeyinde benzer değişiklikler görülür(Şekil-5b).

FSH ve LH düzeyleri gece saatlerinde uyku sırasında daha belirgin olarak yükselir. Bu nedenle gece yapılacak ölçümler hormon düzeylerinde oluşacak pikleri daha iyi gösterebilir. Ancak günümüzde pubertal bozuklukların değerlendirilmesinde bolus şeklinde GnRH verildikten sonra yapılacak olan seri FSH ve LH ölçümleri kullanılır(49,50).



Şekil 4: Erkeklerde ortalama (a) serum testesteron ve (b) gonadotropinlerin (FSH ve LH) puberte basamaklarına göre değişimi (51,52)

Ön hipofizden salgılanan bu hormonlar, sistemik kan dolaşımına geçtikten sonra hedef organlar üzerinde bir dizi endokrin ve gamatojenik etki gösterirler. Bu etki kadınlarda overlerde, erkeklerde ise testislerde ortaya çıkar.

### 3.03.04. TESTİS:

Testisin insanda iki temel işlevi vardır. Bunlardan birincisi androjen hormon olan testosteronun salgılanmasını sağlayan endokrin fonksiyonudur. Bu hormon esas olarak testisin interstisyel hücrelerinden( Leyding hücreleri) salgılanır(53). Diğer işlevi gametogenez fonksiyonudur; testosteron testisin seminifer tubuluslarında, erkek gamet hücresi olan spermatozoidlerin çoğalma ve olgunlaşmasını sağlar.

#### 3.03.04.01 Testiküler gelişme:

Fötal yaşamın daha altıncı haftasında gonadal stromada bulunan epiteloid hücrelerden primitif andifferansiye testis gelişir. Bu hücreler gelecekte sertoli hücrelerini oluşturur. Primordial germ hücresi olan spermatogonia ilk olarak yolk kesesinde saptanır. İlk testosteron oluşturan leyding hücreleri mezenşimal kökenlidir. Yaşamın ilk 9-10 ayında plasantal kökenli olan plasantal gonadotropinler etkisinde testosteron üretimi gerçekleşir. Onikinci haftaya gelindiğinde kanda HCG konsantrasyonu düşer, ve fötal hipofiz kaynaklı LH ve FSH, esas olarak testosteron üretiminden ve seminifer tübülüs gelişiminden sorumlu olmaya başlar. Prenatal dönemde retroperitoneal olan testisler doğuma doğru skrotumdaki yerine göç eder(53).

Fötal testis 12. gestasyonel haftada en yüksek düzeyde testosteron salgılar. Bu nedenle prenatal dönemde testis küçük seminifer tübüller ve geniş interstisyel doku ile karakterizedir. Tübüliler içinde esas olarak spermatogonia ve sertoli hücreleri, az olarak da spermatozoidler bulunur. Lümen tübülüs sıvı üretiminin olduğu pubertal döneme kadar görülebilir değildir. Bu döneme kadar Leyding hücreleri de tam olarak görülebilir değildir(53). Bir ile on yaş arasında testiste önemli bir büyüme görülmez. Erişkin testis

volümünün %90'dan fazlası seminifer tübülüsler, diğer kısmı ise Leyding hücrelerine aittir(53). Testislerde günde 200 milyon kadar sperm üretilir.

### 3.03.04.02. Testiküler fonksiyonların düzenlenmesi

Testosteron biyosentezi: Testosteron 19 karbonlu bir steroid olan androstenolon türevidir olup testiste kolesterolden sentezlenir. Sentez için kullanılan prekürsörler overler ve sürrenal korteksinde kullanılan prekürsörlerle benzerdir. Leyding hücrelerinde olan sentezi esas olarak ön hipofizden salgılanılan LH'nın kontrolü altındadır. LH bu hücreler üzerinde bulunan kendilerine özgü reseptörleri aktive ederek, adenilat siklaz c-AMP sistemi üzerinden hormon sentezini uyarır. Erkeklerde ayrıca adrenal korteks ve kadınlarda overlerde de testosteron sentezi olur. Testiste, testosterondan çok az miktarda öströdiol sentezi de gerçekleşir. Testosteron plazma düzeyi pubertal evrelere göre artış gösterir(Şekil-4 a)(51,52).

Testiste testosterondan başka androjenik etkili üç madde daha sentez edilir. *Dihidrotestosteron*(DHT), androstenedion, dihidroepiandrosteron(37). Bunlardan ilki testosterona göre çok güçlü androjenik etki yapar. Aynı zamanda testosteron prekürsörü olan diğer ikisinin androjenik etkisi belirgin derecede düşüktür; bunlar adrenal korteksten en fazla salgılanılan androjenik maddelerdir. Testis dışında çok yavaş olarak testosterona dönüşürler.

Plazmada testosteron, %97-99 oranda özel bir  $\beta$  globulin olan *Seks Hormonu Bağlayan Globulin*(SHBG)'e bağlanarak, daha az olarak albumine bağlı olarak taşınır. Testosteron prostat, epididimis, seminifer tübülüsler ve cilt gibi bazı hedef hücrelere girdiğinde, hücre stoplazma ve çekirdek membranlarında bulunan 5- $\alpha$  redüktaz enzimi tarafından

daha aktif şekli olan DHT'a dönüştürülür. Diğer bazı hedef hücrelerde de (çizgili kaslar, kemik ve santral sinir sistemi gibi) testosteron doğrudan, bu dönüşüm olmaksızın etki gösterir(53).

#### **3.03.04.03. Testosteron sentezinin kontrolü :**

Leyding hücreleri tarafından testosteron salgılanması, hipofiz ön lobu hücrelerinin salgıladığı LH tarafından kontrol edilir; bu gonadotropin türüne interstisyel hücre stimüle edici hormon adı da verilir. Ön hipofizden salgılanan diğer bir gonadotropin hormon olan FSH'nın testisin endokrin fonksiyonu üzerine etkisi yoktur. Bu hormon testisin seminifer tübülüslerinin çeperinde yer alan sertoli hücrelerini etkileyerek, spermatogenezi kontrol eder(53). Pubertede her iki hormonun da salgılanması artar, buna paralel olarak LH'nın etkisi ile. Leyding hücrelerinden testosteron sentezi artarken; diğer taraftan sertoli hücrelerinde de spermatogenez başlar.

Testisle hipotalamo-hipofizer sistem arasında negatif feed-back kontrol mekanizması vardır. Testosteron düzeyinin artması hipotalamustan GnRH'un salgılanmasını inhibe eder; bu inhibisyon sonrasında ön hipofizden FSH ve LH salınması azalır. Testosteron ek olarak santral sinir sistemi hücreleri içinde östrodiol'e dönüşür ve böylece hipotalamus nöronlarında GnRH salgısı dişilerde olduğu gibi azalır. Testosteron, ön hipofizde LH salgılayan hücreleri direkt olarak inhibe ederken, aynı hücrelerden FSH salgılanması üzerine bir etkisi yoktur. Bu nedenle testis Leyding hücreleri harap olduğunda plazma LH düzeyi yükseldiği halde FSH düzeyinde belirgin bir değişiklik olmaz(53).

Testiste bulunan ve ön hipofizden FSH salgılanmasını düzenleyen esas yapı, seminifer tübülüslerin sertoli hücreleridir. Bu hücreler; inhibin adı verilen glikoprotein yapıda bir

hormon salgılar ve bu hormon negatif feed-back ile ön hipofizden FSH salgılanmasını düzenler.

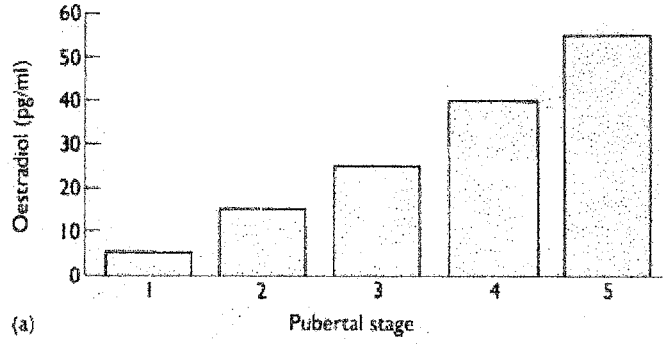
### **3.03.05. OVERLER :**

Overlerin cinsel gelişim ve üreme fonksiyonu için hormon sentezi ve gamet üretme fonksiyonları vardır. Her iki fonksiyon da hipotalamo-hipofizer aks tarafından salgılanan hormolarca kontrol edilir(56). Ek olarak, overlerde lokal olarak üretilen bazı büyüme faktörleri tarafından bir hayli karmaşık olan hücrenel farklılaşmalar gerçekleştirilir.

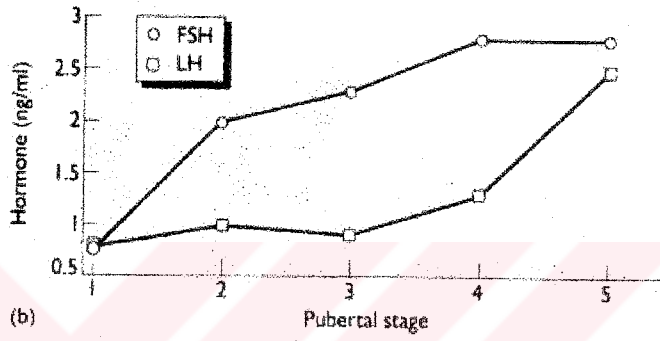
#### **3.03.05.01. Fötal over:**

Fötal yaşamın erken evrelerinde gonadal farklılaşma başlar. Fötal yaşamın beşinci ayında maksimum düzeyde 6-7 milyon adet oogonia vardır. Bu dönemde mayozla başlayan oositlerdeki replikasyon mayozun diplotene fazında duraklar ve bu ilk mayoz bölünme ovulasyonun başladığı çağa kadar tamamlanamaz. Oluşan primordial folliküllerden bazıları zamanla atreziye uğrar ve menarş zamanına kadar primordial follikül sayısı beşyüzbine kadar düşer(56). İnsan fötal overi hücrelerinde LH ve HCG reseptörü bulunmaz, ancak intrauterin yaşamın sonuna doğru FSH reseptörleri görülmeye başlar(57). Bununla birlikte anensefalik doğanlarda bozulmuş folliküler gelişiminin görülmesi, tam bir folliküler maturasyonda gonadotropik hormonların bilinmeyen mekanizmalarla da etkili olduğunu düşündürür(58). Fötal over kolesterolden bazı seks hormonlarının salınmasını etkilerse de bu etki ile sağlanan steroid hormonlar çok fazla öneme sahip değildir(59).





(a)



(b)

Şekil.5: Kızlarda ortalama (a) plazma östrodiol ve (b) gonadotropinlerin (FSH ve LH) puberte basamaklarına göre değişimi (evre I, prepubertal - evre 5 adet gören adolesan (51))

Fötal yaşamda önemli östrojen ve progesteron kaynağı plasenta olup, bu nedenle hipotalamo-hipofiz aks potansiyel olarak işlevseldir. Doğumda plasental hormonların çekilmesine bağlı olarak steroid negatif feed-back'inin ortadan kalkmasına bağlı olarak ilk bir kaç aylık dönemde geçici gonadotropin yüksekliği görülür(60).

### 3.03.05.02. Çocukluk çağında over:

Erken çocukluk çağında gonadotropin düzeyleri ve overden salgılanılan seks hormonu bazal düzeylerde kalır, altı yaşa doğru antral follikülden salgılanılan östrojen düzeyine bağlı olarak östrojen miktarında bir artma oluşur. Bu dönemde gonadotropin salgılanmasında pulsatil salınım olmadığına inanılırken son dönemde IFMA yöntemi kullanılarak yapılan çalışmalarda bu dönemde de pulsatil salınım olduğu gösterilmiştir(61,62). Östrojenlerin salgılanması da puberteye girerken, Tanner evrelerine göre artış gösterir(Şekil-5 a).

Sekiz yaşa doğru ultrasonografi ile tüm normal kızlarda multifoliküler over saptanır ve bu pubertenin erken bir habercisidir. Puberte ile beraber santral sinir sistemi kontrolünde pulsatil gonadotropin salgılanması başlar(63).

### 3.03.05.03. Erişkin overi:

Erişkin overinde granuloza hücrelerinde gamatogenezis, teka interna hücrelerinde de androjen sentezi gerçekleşir. Over işlevlerinin ana düzenleyicileri ön hipofizden salınan FSH ve LH' dır. Matür overde LH reseptörleri teka hücrelerinde, FSH reseptörleri ise preovulatar dönemde gelişen granuloza hücreleri üzerinde bulunur(64). Overler ek olarak folliküler büyüme ve steroidogenezisten sorumlu olan parakrin ve otokrin potansiyele sahip bir çok hormonun sentezinden de sorumludur. Bu hormonlar *Insulin Like Growth Factörler*(IGFs), *Transforming Growth Factörler*(TGF  $\alpha$ - $\beta$ ), *Epidermal Growth Factör*(EGF), angiogeneik faktör, prostoglandinler, eicosanoidler, GnRH -like peptitler, angiotensin II, inhibin, aktivin, folliastatin, interlökinler, Growth hormon serbestleştirici

hormon ve katekolaminlerdir(65). Bu büyüme faktörleri hamilelikte ve follikül gelişimi zamanında değişik işlevler üstlenir.

Kadınlarda overlerden salgılanılan ana hormonlar olan progesteron ve östrojenler; hem sekonder seks karakterlerinin gelişmesinde, hem de seks organlarının kadın tipi gelişme göstermesinde, sonuçta da üreme için gerekli olan olgunluğa ulaşılmasında önemli görevlere sahiptir.

Kadınlarda menapoz öncesi dönemde gebelik çağı dışında ana östrojen östradiol(estradiol-17  $\beta$ ) dur. Bu madde kısmen östron'a dönüşür. Bu dönüşüm iki yönlü olup östron aynı zamanda östrodiolün kaynağıdır(66). Bunlardan oluşan üçüncü östrojen hormon kısmen zayıf etkili olan östrioldür. Dişi cinste östrojenlerin büyük kısmı özel durumlar hariç overlerden sentez edilir. Overlerde sentez edilen östrojenlerin prekürsörleri ilginç olarak androjenik maddelerdir. Öyle ki androstenedion overlerde kısmen östrona ve kısmen de testosterona dönüşür. Testosteron ise aromatisasyon ve dimetilasyonla östradiola çevrilir. Overlere ek olarak plesanta, adrenal korteks ve testisler başta olmak üzere yağ dokusu, karaciğer, böbrek, akciğer, cilt ve beyinde de östrojenler sentez edilir. Buralardaki sentez, over ve adrenal korteks kaynaklı androstenedion'dan östron ya da testesterondan aromatisasyon ile östradiol şeklindedir(66).

Progesteron menstrüel siklusun ilk yarısında folikülde az miktarda salgılanır. Ovulasyondan sonra follikülün korpus luteuma dönüşmesi sonrası salgılanması artar. Daha az miktarda adrenal korteks ve testislerden de salgılanır.

Overler dişi cinste erkeklerdeki testise eşdeğer olan, hem gamatojenik ve hem de endokrin fonksiyonu alan bir organdır. Kızlarda pubertenin başlamasına kadar inaktif durumda iken,

pubertenin başlaması ile hipotalamustan salınan GnRH etkisiyle ön hipofizden salınan FSH ve LH etkisi ile overler endokrin etkinlik kazanır. Bu etkinlik 1-2 yıl kadar düşük düzeyde devam eder. Devamlı olarak salınan östrojenler göğüslerin büyümesi, vücuttaki yağ dağılımı ve vücut profilinin kadınlardakine uyacak şekilde yeniden düzenlenmesine(kalça ve uyluklarda yağ toplanması gibi) ve iskeletin hızlı büyümesine yol açar(67). Testosteronla birlikte pubis ve koltuk altı kıllanmasının oluşumuna katkıda bulunur.

#### **3.03.05.04. Menstrüel siklus:**

Klasik olarak ovulasyondan önce görülen folliküler dönem ve sonra görülen luteal dönem olarak iki dönemde incelenir. Her bir siklusun başında giderek artan FSH salgısına bağlı olarak overlerde birkaç follikül büyümeye başlar. Overlerde östrojen sentezinin ve salgılanmasının sadece başlatılmasında FSH'ın katkısı vardır(66). FSH bu etkiyi teka hücrelerindeki aromataz enzimini indükleyerek yapar. FSH'ın diğer bir etkisi teka hücrelerinin LH reseptör sentezini başlatması ile LH reseptör sayısının giderek artmasıdır. Folliküler dönemde FSH'ın etkisiyle, LH reseptörlerinin gelişmesi ve LH düzeyinin yükselmesinin sağlanması LH'nin östrodiol sentezini ve salgılanmasını giderek artırmasına neden olur. LH, östrojen sentezindeki artmayı teka hücrelerinde östrojen prekürsörü olan androstenedion ve testosteronun oluşumunu artırmak suretiyle yapar(66). FSH'nın folliküler dönemdeki bir diğer görevi de teka hücrelerinden inhibin salgılanmasını artırmasıdır: FSH ön hipofiz hücreleri üzerinde negatif feed-back inhibisyon yaparak FSH salgılanmasını azaltır. Olgunlaşan follikülde (graaf follikülü) ovum gelişmeye başlar. Siklusun ortasına doğru östrojen salgılanması hızlanır ve plazmadaki doruk noktasına ulaşır. Ovulasyon öncesi birkaç gün içinde olan bu yüksek östrojen düzeyi hipotalamustan

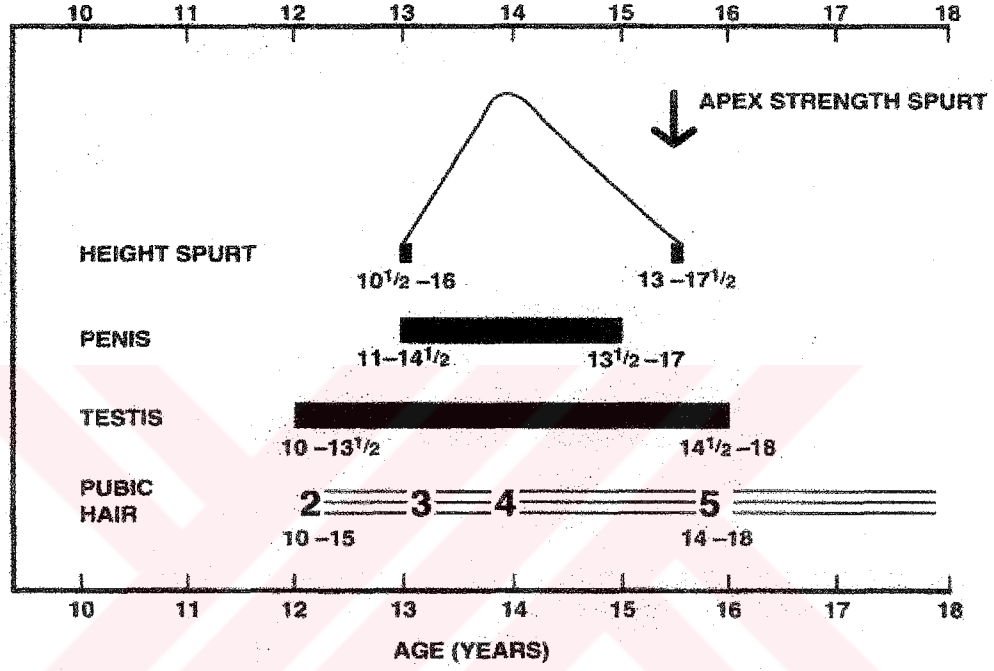
GnRH salgılanmasını artırır. Östrodiol bu sırada pozitif feed-back etki ile ön hipofiz gonadotrop hücrelerinin GnRH'e olan duyarlılığını artırır. Bunun sonucu olarak LH düzeyinde kısa süren bir pik olur ve sonuçta ovulasyon gerçekleşir. Bu sırada FSH düzeyinde de artış olur. Ovulasyondan sonra LH ve FSH düzeylerinde düşme, östradiol düzeyinde ise önce düşme ve sonra yükselme olur. Aynı zamanda granüloza hücre zarından LH kontrolü altında progesteron sentezi ve salınımı ortaya çıkar ve düzeyinde artış olur. Progesteron negatif feed-back ile hipotalamustan GnRH salınımını inhibe eder. Ovumunu kaybeden follikül içinde kanama olur. Ovulasyondan sonra LH etkisinde corpus luteum oluşur. Döllenme olmamışsa corpus luteum atrofiye uğrar, döllenme olmuş ve gebelik başlamışsa bir kaç ay daha progesteron salgılamaya devam eder.

Menstürasyon sırasında endometrium ve vaginada da siklik değişiklikler oluşur.

### **3.04. PUBERTEDE OLUŞAN FİZİKSEL DEĞİŞİKLİKLER**

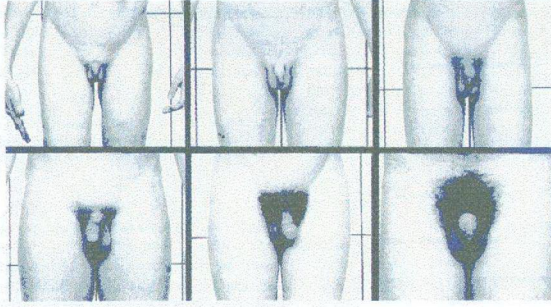
Etkilenmiş bireylerde meydana gelen prepubertal ve puberte sekonder seks karakteri değişiklikleri ilk kez Tanner tarafından objektif yöntemlerle gösterilmiştir(68,69). Günümüzde pubertal gelişim açısından takip edilen olguların sekonder seks gelişimlerinin izleminde Tanner evreleme sistemi kullanılır. Bu evrelemeye göre meme gelişimi, pubik kıllanma ve aksiller kıllanma esas alınarak kızlarda Evre -I den Evre V'e kadar her parametre için ayrı ayrı evreleme yapıp kaydedilir. Erkekler için de pubik kıllanma ve aksiller kıllanma esas alınarak evreleme yapılır.

gergin durumda ölçülür. Penis boyu prepubertal dönemde 6.2 cm'den ortalama adult uzunluğu olan 13.2 cm'ye ulaşır.



Şekil-6. Puberte boyunca erkeklerde oluşan ardışık sekonder seks değişimleri(69).

Tanner evreleme kriterleri, erkeklerde genital evreleme için en yaygın kullanılan kriterlerdir( Şekil-7).



Şekil-7: Erkeklerde genital gelişim ve pubik kıllanma evreleri (marshall& Tanner,1970(69,70,72)

#### Genital evre:

Evre-1: Preadolesant testis, skrotum ve penis yaklaşık aynı boyuttadır ve erken çocukluk boyutu ile arasında belirgin değişim görülmez.

Evre-2: Skrotum ve testis büyümeye başlamış,skrotum deri renge koyulaşma başlamıştır.Testis boyu ortalama 2.7 cm, hacmi 4.0 ml düzeyindedir.

Evre-3: Testis ve skrotum büyümeye devam ederken, penis boyunda ve eninde artış görülür.

Evre-4: Penis boy ve genişliğindeki değişime glans değişimleri eşlik ederken, testis ve skrotum değişiklikleri tamamlanır. Skrotum rengi en koyu duruma gelmiştir.

Evre-5: Genital görünüm adult durumuna gelmiş olup bu evreden sonra genital büyüme görülmez.

#### Pubik kıllanma evresi:

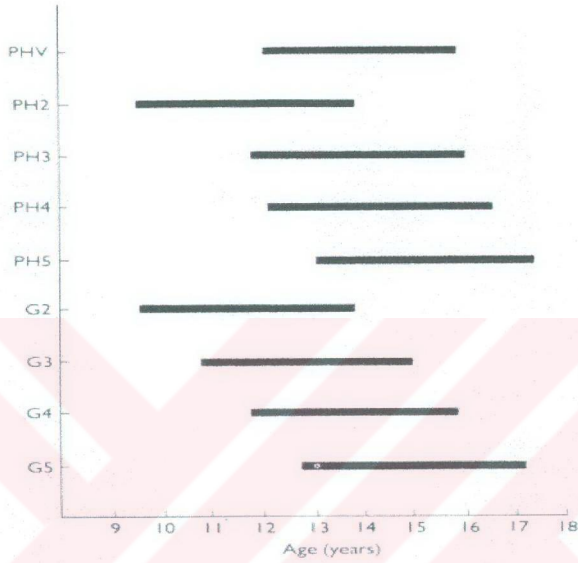
Evre-1: Preadolesant. Pubik kıllanma görülmez.

Evre-2: Penis tabanında ince açık renkli kıllanma başlar.

Evre-3: Pubik kıllar kalınlaşmaya, koyulaşmaya ve hafif kıvrılmaya başlar.

Evre-4:Pubik kıllanma adult tiptedir, ancak dağılım alanı daha az ve uyluğun medial yüzüne yayılım yoktur.

Evre-5:Kıllanma kalitesi tamamlanmış uyluğun medial yüzü kıllanması tamamlanmış ve kıllanma karın duvarı kıllanması ile birleşmiştir.



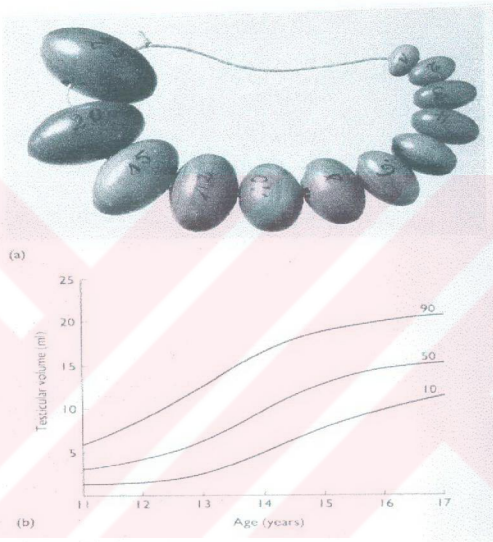
Şekil -8. Batı avrupa erkeklerinde puberte basamaklarına göre sekonder seks karakteri değişimleri( PHV: peak height velocity, PH-2-5: pubik kıllanma evresi, G2-5: genital evre) (69,73).

### Testis gelişimi:

Prepubertal testis esas olarak sertoli hücrelerinde oluşurken, erişkin dönemde esas olarak seminifer tubülüs germ hücrelerinden oluşur. Seminifer tubüller pubertal evre boyunca kan testis bariyeri boyunca gelişmesini sürdürür(74). Leyding hücreleri prepubertal dönemde az olarak görülürken; pubertal dönemde belirgin duruma geçer.



Onbir onbeş yaşlarında spermatogenesis histolojik olarak gösterilebilir(74). Testis hacmi pubete ile artış gösterir. Testis hacminin yaşa göre ortalama hacimleri şekil-9b'de ve Tanner evrelerin göre değişimi tablo-1'de gösterilmiştir. Ejekulasyon 13.5 yaşında görülür(75).



Şekil- 9. (a)Prader orşimetresi, (b) değişik yaş gruplarına göre testis hacim persentilleri ( 71).

Tablo I: Testis gelişimi ile pubertal evre ilişkisi

	pubertal evre				
	1	2	3	4	5
TVI#	1.8	4.5	8.2	10.5	-
Hacim (cm <sup>3</sup> )74	2.5	3.4	9.1	11.8	14.0
Hacim (cm <sup>3</sup> )80	1.8	4.2	10.0	11.0	15.0
Hacim (cm <sup>3</sup> )81	1.8	5.0	9.5	12.5	17.0

TVI#:testis hacim indeksi: (uzunluk x sağ testis + uzunluk x sol testis/2) Testis volümü: orşimetre(71,76,77).

### **3.04.01.02. Seksüel kılınma:**

Pubertede görülen artmış androjen sekresyonu ve buna bağlı değişimler adrenarş olarak bilinir. Kızlarda 6-7 yaşlarında erkeklerde 7-8 yaşlarında adrenal korteks zona retikularis fonksiyonları, serum adrenal androjenleri olan *Dihidroepiandrosteron*(DHA) ve *Dihidroepiandrosteron Sülfat*(DHAS) artış gösterir(78). Aynı zamanda adrenal 17 hidroksilaz ve 17-20 desmolaz aktivitesi de artar. Bu değişiklikleri oluşturan etmenler bilinmemektedir. Değişik kesitsel ve longitudinal çalışmalar serum DHAS 'ın prepubertal düzeyinin on katına kadar arttığını göstermiştir(78).

Adrenal androjenler her iki cinstede pubik ve aksiller kılınmayı düzenler. Pubik ve aksiller kılınmanın başlaması ve tamamlanması (Şekil -7, 8 ). Öte yandan kistik akneli olguları çoğunda da DHAS'ın artmış olduğu gösterilmiş, düşük doz deksamethason ile suprese edilmesinin %95 oranında remisyona neden olduğu gösterilmiştir(79).

### **3.04.01.03. Kas kitlesi ve vücut kompozisyonu**

Geçen yüzyılın sonunda radyografik tekniklerin kullanılması ile beraber adölasans boyunca erkeklerde kas ve kemik kitlesinde belirgin artış ve yağ dokusunda azalma gösterilmiştir(80). Kas kitlesinde maksimum artış PHV zamanında ortaya çıkar ve en çok üst ekstremitede belirgindir. Kızlarda kas kitlesi artışı aşamalı olarak ortaya çıkarken, erkeklerde hızlı bir artış olur. Erişkin erkeklerin kas kitlesi kadınlarınkinden iki kat fazladır(81).

#### **3.04.01.04. Fertilite ve ejakulasyon:**

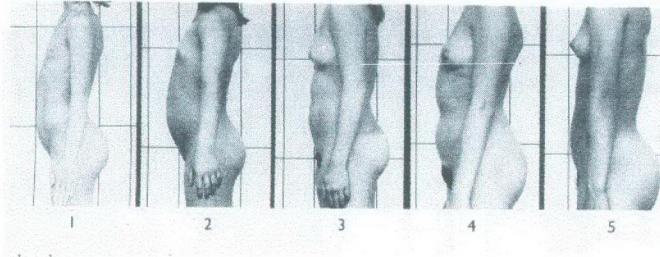
Kinsey ve arkadaşlarına göre erkeklerde masturbasyon 8 yaşında başlar(82). Bazı erkeklerde %2 spermaturi 11-12 yaşlarında izlenebilir. Fakat ortalama görülme yaşı  $13.3 \pm 0.2$  (SE) olarak belirtilmiştir(83). İlk ejakulasyon takvim yaşına göre 12.5 ile 15.5 , kemik yaşına göre  $13.5 \pm 0.5$  yaşlarında görülür(84).

#### **3.04.01.05. Ses değişikliği:**

Ortalama 13 yaşlarında görülür ve erişkin karakterine 15 yaşında döner. Her iki durumda larinks, cricotroid ve laringeal kas genişlemesine bağlıdır(85). Fasial kıllanma ortalama 15 yaşında görülür. İlk olarak üst dudak kenarından başlar.

### **3.04.02. KIZLARDA GÖRÜLEN SEKONDER SEKS KAREKTERİ DEĞİŞİMLERİ**

Meme gelişimi ve pubik kıllanmaya göre yapılan evreleme benzerlik gösterir. (Şekil- 10, 11). Ancak her iki prosesi farklı organlar kontrol eder. Bazen boy artış hızındaki değişim puberteye girişin ilk bulgusu olabilir(Şekil- 12).



Şekil-10 Meme gelişimi evreleri (68,70,72).

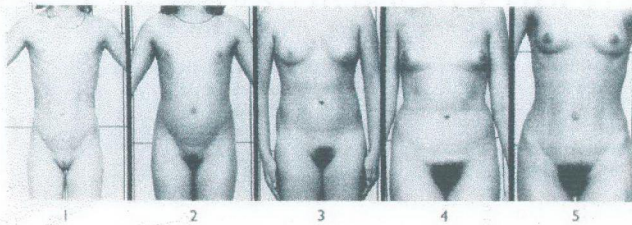
Evre 1: Preadelasant, sadece papillada belirginlik var.

Evre-2: Meme başı tomurcuğu belirgin, areola çapı artmış, memede elevasyon.

Evre 3: Meme ve areola daha da gelişmiş.

Evre-4: Areola ve papilla memeden ayrımlanan ikinci bir kabartı yapmış.

Evre-5: Sadece papilla areoladan farklı çıkıntı yapmış.



Şekil-11: Kızlarda genital gelişim ve pubik kıllanma evreleri (68,70,72)

### Pubik kıllanma evresi:

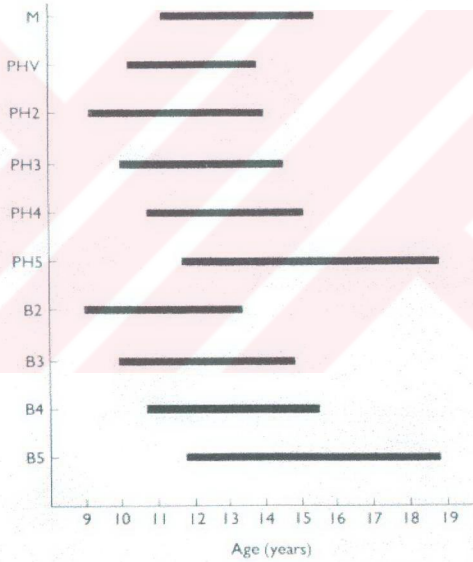
Evre-1: Preadolesant. Pubik kıllanma görülmez.

Evre-2: Labialarda ince açık renkli kıllanma(vellüs) başlar.

Evre-3: Pubik kıllar kalınlaşmaya, koyulaşmaya ve hafif kıvrılmaya başlar.

Evre-4: Pubik kıllanma adult tiptedir ancak dağılım alanı daha az ve uyluğun medial yüzüne yayılım yoktur.

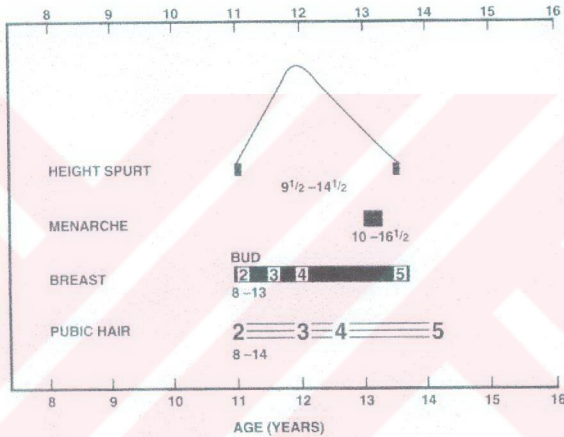
Evre-5: Kıllanma kalitesi tamamlanmış uyluğun medial yüzü kıllanması tamamlanmış ve kıllanma karın duvarı kıllanması ile birleşmiştir.



Şekil-12. Batı Avrupa kızlarında puberte basamaklarına göre sekonder seks karakteri değişimleri M: menarş, PHV: peak height velocity, PH2-5: pubik kıllanma evresi, B2-5: meme gelişimi (68,72).

### 3.04.02.01. Büyüme Hızı:

Prepubertal büyüme eğilimi erkek ve kızlarda benzerdir. Infantlarda erkeklerdeki boy uzaması kızlara göre biraz fazladır. Pubertal boy uzaması ise kızlarda erken, ancak daha azdır. Pubertede ortalama boy uzaması 20-25 cm dir. Kızlarda boy uzaması ve sekonder seksüel gelişim arasındaki ilişki şekil -13 gösterilmiştir.



Şekil-13. Puberte boyunca kızlarda oluşan ardışık sekonder seks değişimleri(68).

### 3.04.02.02. Meme gelişimi:

Meme gelişimi primer olarak overlerden salgılanan östrojenler tarafından kontrol edilirken, aksiller ve pubik kılanma esas olarak adrenal korteksten salgılanan androjenler tarafından kontrol edilir. Meme gelişimi pubertenin ilk klinik bulgularından biridir (Şekil-12, 13). Meme gelişimi başlangıç döneminde tek taraflı olabilir ve durum çoğu zaman aileleri gereksiz bir korkuya iter. Ancak yapılan biyopsi çalışmalarında tek taraflı meme gelişimi

olan bu bireylerde meme histolojisi normal olarak bulunmuştur. Meme başı papilla görünümü pubertal gelişmede evreleme için kullanılır. Ancak pubik kıllanma(*Pubic Hair:PH*)1-3 ya da meme gelişim evresi (B) 1-3 iken meme başı papillasındaki (çap ortalama 3-4 mm.) değişim önemli farklılık göstermez. Ancak evre 4 ve 5 ise meme başı(çap 7.15- 9.66 mm sırasıyla) gelişimine bakılarak objektif olarak ayrılabilir( tablo- II).

Kızlarda meme gelişimi overlerden salgılanan östrojenin kontrolü altındadır. Tanner ilk kez meme gelişimi evrelerini tanımlamıştır(Şekil-10,11)(86). Ülkemizde de Büyükgebiz ve arkadaşları(87,88) Tanner evreleri ile meme gelişimi arasındaki ilişkileri araştırmışlar ve areola çapındaki en belirgin artışın erken adolesanda olduğunu bulmuşlardır.

Tablo-II. Tanner evrelerine göre meme başı değerleri

evre	Meme başı çapı	
	cross sektional data	longitudinal data
B1	2.89(0.81)	3.0(0.77)
B2	3.28(0.89)	3.37(0.96)
B3	4.07(1.32)	4.72(1.40)*
B4	7.74(1.64)*	7.25(1.46)*
B5	9.94(1.38)*	9.41(1.45)*
PH1	2.95(1.02)	3.14(1.31)
PH2	3.32(0.91)	3.69(1.34)
PH3	4.11(1.54)	4.44(1.17)*
PH4	7.15(1.81)*	6.54(1.47)*
PH5	9.66(1.59)*	8.98(1.56)*

Sonuçlar mean  $\pm$ SD olarak verilmiştir.\*: bir öncekine göre anlamlı değişiklik,  $p < 0.05$ (86)

### **3.04.02.03. Pubertede iç ve dış genital organlardaki değişimler:**

Eksternal genital organların büyüme ve gelişmesi östrojen kontrolü altındadır. Labia minor ve major gelişimi, vajinal mukoza değişiklikleri, vajinal akıntı klinik olarak saptanan değişikliklerdir. Ayrıca overlerde ve diğer iç genital organlarda da değişiklikler olup, görüntüleme yöntemleriyle gösterilebilir.

### **3.04.02.04. Seksüel kıllanma ve akne:**

Pubik ve aksiller kıllanma esas olarak adrenal korteksten salgılanan androjenlerin etkisindedir(Şekil10,11). Pubik kıllanmanın başlaması, devamı ve ortama yaşı tablo 5.7 gösterilmiştir. Aksiller kıllanma ortalama olarak 12 yaşında görülür. Erkeklerde olduğu gibi yağ bezleri aktivitesi DHA ve DHAS tarafından düzenlenir. Kistik aknesi olan olgularda DHAS konsantrasyonu kontrollere göre yüksektir ve düşük doz gece kullanılan deksametazon ile suprese edilebilir.

### **3.04.02..05. Kas kütlesi ve vücut oranları:**

Vücut hatlarında ve kompozisyonunda oluşan değişimler seks hormonlarının artmasına ve sekonder seks karakterlerinde olan değişimlere bağlı olarak ortaya çıkar. Yağsız vücut ağırlığı, iskelet kütlesi ve vücut yağ oranları prepubertal kız ve erkeklerde eşittir. Kızlarda vücut kompozisyonundaki en erken değişimler 6 yaşında başlar. Bu değişikliğin nedeni vücut yağ oranlarında ortaya çıkan artıştır. Ergen yaşa gelindiğinde kadınların yağ dokusu erkeklerin iki katına çıkar. Öte yandan erkeklerin ise iskelet ve yağsız vücut ağırlığı kızlardan daha fazladır. Total vücut kas kütlesi de erkeklerde kadınlardan daha fazladır. 1970 yılında Frisch ve Revelle(89) menarşın başlaması için kritik ağırlığın 48 kg olduğunu rapor ettiler. Kadınlarda menarşın olabilmesi için vücut ağırlığının %17'sinin yağ dokusu olması gerekmektedir(30).



### 3.04.02.06. Menarş, fertilite ve ovulatuvar siklus:

Ortalama menarş yaşı  $12.7 \pm 1.0$  dir. (Şekil-13). Ancak ilk iki yıl menstrüel siklüs anovulatuvar olabilir. İntermenstrüel aralık ortalama 28 ( %90 konfidens aralığı 22-40) gündür.

Menstrüel siklusun oluşumu, mestürasyon ortası dönemde ortaya çıkan LH pikini takiben ortaya çıkan ovulasyona bağlıdır. Ovulasyon LH pikinden 24 saat sonra ortaya çıkar. Post ovulatuvar dönem  $14 \pm 1.0$  (SD) gün sürer. Bu döneme luteal dönem denir. Luteal dönemde asıl etkin olan hormon progesterondur. Herhangi bir nedenle ortaya çıkan uzamada luteal faz defekti ortaya çıkar ve bu dönem anovulatuvardır. Pubertenin ilk yıllarında görülen anovulatuvar dönem, bu olaya bağlıdır.

### 3.05. İDRAR GONADOTROPİNLERİNİN ÖLÇÜMÜ

Çocuklarda kan örneği almanın zorluğu ve pratik olmaması nedeniyle idrar örneğinden gonadotropin düzeylerinin ölçülmesi; serum gonadotropin ölçümüne alternatif olarak kullanılabilir(90). İdrarda prepubertal gonadotropinlerin biyoassay yöntemi kullanarak ölçülebileceği ilk kez 1960 yılına Fitschen ve Clayton(7) ve Kulin(8) ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Daha sonraları RIA yöntemi kullanarak idrar LH ve FSH'nın ölçülebileceği gösterilmiştir(9-10).

Daha sonraki çalışmalarda özellikle prepubertal dönemde idrar gonadotropin düzeylerinin düşük olması nedeniyle RIA ile ölçümlerde sonuçların tartışmalı olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca RIA ile ölçümlerde düşük düzeyde serum gonadotropinleri ölçülürken de non-spesifik interferans nedeniyle yanlış sonuçlar bildirilmiştir(6,12-15).

Son yıllarda idrarda ileri derecede düşük düzeyde olan büyüme hormonu ve prepubertal dönemde düşük düzeyde olan idrar gonadotropinlerini ölçmek için, daha duyarlı olan LIA ve ileri derecede duyarlı olan IRMA ve IFMA yöntemi kullanılmaktadır(5, 9-14) İlk yıllarda, idrar gonadotropinlerinin ölçümü için, 24 saatlik idrar örnekleri kullanılırken, 1980 yılında Bourguignon ve arkadaşları(15) geniş kapsamlı bir çalışmada FMV idrarının, 24 saatlik idrara paralel sonuç gösterdiğini saptamışlardır. 1987 yılında, Girard ve Hadziselimmoviç(16) FMV kullanılarak pubertal bozuklukların ve hastalıkların ayırıcı tanısının konulabileceğini rapor ettiler. Daha sonra Maeseka ve arkadaşları(17-18). FMV idrarında FSH ve LH ölçümünün 24 saatlik idrarda gonadotropinlerin ölçümü ile korelasyon gösterdiğini bildirdiler.

İdrar, yapısında bulunan üre ve benzeri maddeler ve pH'nın düşük olması nedeniyle hormonların yapısını bozmakta ve ölçülebilirliğini azaltmaktadır. Bu nedenle RIA yöntemi ile idrar gonadotropinleri ölçülürken, koruyucu olarak timol, sodyum azid ve amoyum sülfat kullanılmıştır. Demir ve arkadaşları, IFMA yöntemi ile i-LH ve i-FSH'sının ölçümü için koruyucu kullanmanın gerekli olmadığını saptamışlardır(90,94).

Demir ve arkadaşları, i- LH ve i-FSH'nın oda ısında(20 °C), buzdolabında(4 °C) ve derin dondurucuda(-20 °C) stabilitesini kaybetiğini ve 7 hafta sonunda başlangıç değerinin sırasıyla LH için % 48.3, %95.1 ve %77.4 ve FSH için %71, %93.3 ve %76.9 düştüğünü bildirmiştir(90). Benzer olarak, Livesey ve arkadaşlar da idrar örneklerinin -20 ve 25 °C'de saklanması idrar LH ve FSH miktarını düşürdüğünü bildirmişlerdir(91).

Sekonder seks karakterlerinde belirgin değişim başlamadan önce, (6. ve 7. yaşlarda) serum LH ve FSH düzeylerinde artma ortaya çıkar(91,92). Ancak, erken prepubertal dönemde de gonadotropinler pulsatil olarak salındığından bu değişimi gösterebilmek için seri halde, 20 dakikada bir gece boyu serum gonadotropinlerini ölçmek gereklidir. Bununla birlikte, yapılan son çalışmalarda, gece boyu serum gonadotropinlerini ölçmek yerine FMV bakılarak prepubertal ve pubertal bozuklukların takibinde kullanılabileceği ileri sürülmüştür(17,18,93).

Bu çalışmada; LIA yöntemi kullanılarak Tanner evrelemesine göre, her evreden 10'ar hastada serum ve idrar gonadotropinleri düzeyleri FMV idrarından ölçülerek, erkek ve kızlarda s-LH ve s-FSH değerleri ile i-LH ve i-FSH değerleri, pubertal evreye göre oluşan değişiklikler ve serum ve idrar düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmıştır.

## 04. GEREÇ VE YÖNTEM

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları genel polikliniğine, Ocak 1996 - Aralık 1996 tarihleri arasında başvuran; yaş ortalaması  $12.375 \pm 2.230$  olan, 50'si kız (yaş ortalaması:  $11.710 \pm 2.322$ ) ve 50 'si erkek (yaş ortalaması:  $12.870 \pm 2.847$ ) toplam 100 sağlam çocuk çalışmaya alındı.

Hastaların öyküsünde; endokrinolojik, metabolik, onkolojik ve nefrolojik bir yakınmasının olmaması ve son dönemde böbrek fonksiyonları ve endokrin sistemi (hipotalamus-hipofiz-over kız için / testis erkek için aksımı) etkileme olasılığı bulunan herhangi bir tedavi almamış olmasına özen gösterildi.

### 04.01. Protokol:

Çalışma, serum ve idrar gonadotropinlerinin LIA yöntemi ile ölçülmesi ve pubertal basamaklara göre serum ve idrar gonadotropinleri arasındaki farklılıkları karşılaştırmak amacıyla prospektif olarak planlandı. Bu amaçla, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları genel polikliniğine başvuran, yukarıda belirtilen özelliklere sahip hastalardan, yaşları 6.5- 17 yaş arasında değişen 50 kız ve 50 erkek toplam 100 hasta çalışmaya alındı. Hastaların tümünden ayrıntı öykü alınarak hastanın adı, cinsiyeti, boyu, ağırlığı, doğum tarihi, ilk muayene tarihi kızlarda ilk adet tarihi, hastaneye başvuru tanısı, ve aldığı tedaviler kaydedildi. Ayrıntılı fizik incelemeleri yapılan hastalar, Tanner evrelemesine göre erkekler için; G1P1- G5P5 ve kızlar için; B1P1- B5P5 pubertal evreye göre her evreden 10'ar olgu çalışmaya alındı. Pubertal evreleme için klinisyen tarafından

direkt meme, aksiller ve pubik kıllanma ve erkeklerde penis boyu ve eni ölçülerek kaydedildi. Ayrıca testis volümleri Prader orşimetresi ile karşılaştırılarak değerlendirildi( Şekil-9).

Hastalar çalışma için bilgilendirilip, tüm hasta yakınlarından sözlü izin ve okula devam etmekte olan olguların okul idaresininden yazılı izin alındı. Hastalardan, akşam son idrar yapış saatlerini kaydetmeleri ve sabah ilk idrarlarını bir saat içinde hastaneye getirmeleri istendi. Hastaların tümünden 08.00-10.00 arasında açlık kanı alınıp, 2000 devirde santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Serum örnekleri çalışma zamanına değin -20 °C derin dondurucuda, idrar örnekleri ise 4 °C'de buzdolabında saklandı.

Alınan serum ve kan örnekleri herhangi bir koruyucu madde eklenmeksizin ağzı kapatılan polietilen tüplerde saklanıp, ortalama  $24 \pm 2.32$  gün sonra çalışmaya alındı.

#### **04.02. Örneklerin çalışılması:**

İdrar ve serum LH ve FSH ölçümleri için LIA- mat ® immunoluminometrik assay kullanıldı. Luminescence İmmunoassay ( LIA) radyoimmunoassay (RIA)'ya benzemekle beraber LIA'da kullanılan antijenler, radyoizotop yerine limunojen (ışık üreten bir madde) ile işaretlenmektedir.

LIA- mat ® -LH, serumdaki LH'nın immunoluminometrik olarak ölçümümünü sağlayan tek basamaklı (one-step assay) yöntemidir. Hem serumda bulunan LH, hem de fare serumundan elde edilen monoklonal antikorla işaretlenmiş reaktan test tüpü duvarıyla reaksiyona girer.

Sonuçta anti-LH tracer konjugatı, anti-LH antijeni ve buna kovelan bağla bağlanan isoluminol derivesi içerir. LH ile birleşen bu kompleks luminometre adı verilen ve 450 nm ölçülebilen ışık reaksiyonu verir. Burada ölçülen ışık uyarıları standart örneklerle karşılaştırılıp serum değeri saptanır (Catalog no: 342.201.). LH'nın normal düzeyi pubertal evre ve kadın erkek arasında farklılık gösterir( Tablo-III).

**Kalibrasyon:** LH için kullanılan LIA- mat ® test kiti WHO 1.IRP80/552 referansına göre test edilmiştir. LIA- mat ® 0-200 IU/L arası konsantrasyonu direkt olarak 200 üstündeki değerleri otomatik dilusyon yöntemine göre seyrelterek verir. İntra ve inter assay varyasyon kat sayısı % 3.5- 6.9 arasındadır.

**LIA- mat ® FSH,** serum ve plazmada follikül stimulan hormonun kantitatif ölçümü için kullanılan invitro bir ölçüm yöntemidir.

LIA- mat ® FSH iki farklı spesifitesi yüksek monoklonal antikor (mouse ) kullanarak yapılan iki yönlü immunoflorometrik bir ölçüm yöntemidir. Antikor kaplı tüp solid faz olarak iş görmektedir.. Radyoaktif işaretli antikor ve kaplanmış antikor hastanın ya da standart örnekteki FSH ile reaksiyona girer. Anti FSH ile işaretlenmiş bileşimi; antikor ve ona kovelan bağla bağlanan isoluminol derivesinde oluşur. Tüp duvarında bağlı olan Tracer FSH kompleksi ışık reaksiyonu ile saptanır. Test tüpündeki katalizör ve alkalin peroksidaz solusyonunun otomatik enjeksiyonu ile isoluminolün oksidasyonu başlar. Bu arada ortaya çıkan fotonlar ani emisyonu -ki 20 saniyede tükenir- luminojenik reaksiyon olarak luminometre ile ölçülür. Burada oluşan 425 nm dalga boyundaki sinyal relative light units(RLUs) direkt olarak örnek ve standartta ait FSH'ı gösterir. (Catalog no: 342.251.). LH'nın normal düzeyi pubertal evre ve kadın erkek arasında farklılık gösterir( Tablo-III).

**Kalibrasyon:** FSH için kullanılan LIA- mat ® test kiti WHO 1.IRP85/575 referansına göre test edilmiştir. LIA- mat ® 0-200 IU/L arası konsantrasyonu direkt olarak 200 üstündeki değerleri otomatik dilusyon yöntemine göre seyrelterek verir. İntra ve inter assay varyasyon kat sayısı sırasıyla % 2.4-4.7 ve % 3.8 - 6.5 arasındadır.

#### **04.03. Test işleminin ilkeleri:**

LIA- mat ® FSH sistem 300 ve LIA- mat ® -LH tamamen otomatik olarak işleyen altı aşamada gerçekleşir.

1. 100 µl standart, kontrol ya da hasta serumu ile kaplanmış tüpün içine konulur.
2. Her bir test tüpüne 100 µl FSH ölçümü için anti-FSH ayracı, LH ölçümü için anti- LH ayracı eklenir.
3. Tüpteki içeriği otomatik olarak karıştırılır.
4. İçerik sallanarak oda ısısında(18-25 OC ) 30 dakika bekletilerek çalkalanarak inkübe edilir.
5. Tüp içeriği %09'luk 2 ml NaCl ile ya da saf su ile 3 kez yıkanıp aspire edilir.
6. Test tüpleri lumunometreye konulur ve RLU düzeyi ölçülür.

Herbir ölçümden önce 300 µl katolizör solusyonu ve alkalen peroksidaz solusyonu her bir tüpe otomatik olarak enjekte edilip bunu takiben örnekteki ışık emisyonu 5 saniyelik aralarla ölçüldü.

#### **04.04. İdrar kreatinin ölçümü:**

İdrar kreatinini, Jaffé yöntemi ile RA- 1000 otoanalizör kolorimetrik olarak belirlendi.

Tablo III. Erkek ve kadınlarda normal serum LH ve FSH değerleri

	Tanner Evresi	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)
Erkek	Evre I	<1-4	<1-3
	Evre II	<1-5	2-7
	Evre III	2-10	2-8
	Evre IV	2-10	2-8
	Evre V	5-11	1-8
	Adult	3-10	1-8
Kadın	Evre I	<1-4	<1-5
	Evre II	<1-5	<1-6
	Evre III	<1-10	1.5-9
	Evre IV	3-11	2-9
	Evre V	2-12	1-9
	Adult		
	Foliküler	3-11	1-9
Ovulatuvar	18-70	4-30	
Luteal	2-11	<1-7	



#### **04.05. İstatistik:**

Çalışmaya alınan olguların idrar ve serum LH ve FSH değerlerinin karşılaştırılmasında erkek ve kızların ortalama değerleri için student t testi, gruplar arası ortancaların test edilmesinde Kruskal- Wallis tek yönlü varyans analizi yapıp, ek olarak ikişerli grupların farklarını test edilmesi için de Mann-Wittney U testi kullanıldı. Grupların idrar ve serum gonadotropinlerin arasındaki ilişki korelasyon - regresyon analizi ile test edildi. İstatistiksel değerlendirmede,  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi.



## 05. BULGULAR

Çalışmaya, yaş ortalaması;  $12.375 \pm 2.230$  olan 50'si kız (yaş ortalaması:  $11.710 \pm 2.322$ ) 50'si erkek (yaş ortalaması:  $12.870 \pm 2.847$ ) toplam 100 olgu prospektif olarak alındı.

Olguların seçiminde, Tanner evrelemesine esas alınarak, erkekler için *Genital Evre*(G1-G5) ve kadınlar için *Meme Gelişim evresinine* (B1-B5) göre her evreden 10'ar olgu; erkekler için testis hacmi ve penis boyu kadınlar için de meme gelişimine göre gruplara ayrıldı. Olguların tümünden serum FSH ve LH idrar FSH ve LH değerleri çalışıldı.

Tüm deneklerin rutin idrar analizi, tam kan sayımı, SGOT, SGPT, total bilirubin, direkt bilirubin, BUN, kreatinin ve troid fonksiyon testleri normal olarak bulundu.

### 05.01. Kız ve erkeklerin ortalama yaşları arasındaki ilişkiler

Olguların kızlar için meme gelişimi ve erkekler için genital evreye göre ortalama yaşları tablo-I'de özetlenmiştir. Tanner evresine göre evre-I, kız ve erkeklerin ortalama yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı( $p=0.904$ ). Tanner evrelemesine göre evre-II ile evre-V arasında bulunan kız ve erkeklerin yaş ortalaması karşılaştırıldığında sırasıyla E-II için;  $10.42 \pm 0.492$ ,  $11.85 \pm 0.482$   $p=0.007$ , E-III için;  $11.68 \pm 0.49$  ve  $13.12 \pm 0.594$   $p=0.002$ , E-IV için  $12.72 \pm 0.591$  ve  $14.93 \pm 0.781$   $p=0.004$  ve E-V için;  $15.25 \pm 0.394$  ve  $16.25 \pm 0.390$   $p=0.020$  olarak bulundu(Tablo-IV).

Tablo- IV: Tanner evresine göre kızların (meme gelişimi) ve erkeklerin (testis ve penis gelişimi) ortalama yaşları.

Tanner evresi	n	Kız(yaş)	Erkek(yaş)	p
Evre I	10	8.32 ± 0.619	8.50±1.174	0.904
Evre II	10	10.42 ± 0.492	11.85 ± 0.482	<b>0.007</b>
Evre III	10	11.68 ± 0.490	13.12 ± 0.594	<b>0.002</b>
Evre IV	10	12.72 ± 0.591	14.93 ± 0.781	<b>0.004</b>
Evre V	10	15.25 ± 0.394	16.25 ± 0.390	<b>0.020</b>

Kız ve erkeklerde, pubik ve aksiller kıllanma esas alındığında yapılan değerlendirmede yaş ortalamaları arasındaki fark tablo V'de gösterilmiştir. Genital evrelemedekine benzer olarak evre- I' de yaş ortalamaları arasında fark  $8.44 \pm 0.693$  ve  $8.23 \pm 0.812$ ,  $p=0.939$  istatistiksel olarak anlamsız bulundu(Tablo-V).

Sonraki evreler için yapılan değerlendirmede aradaki fark sırasıyla evre-II için;  $10.52 \pm 0.406$  ve  $11.78 \pm 0.503$ ,  $p=0.002$  evre-III için;  $11.78 \pm 0.491$  ve  $13.20 \pm 0.614$ ,  $p=0.004$ , evre-IV için;  $12.66 \pm 0.334$  ve  $15.07 \pm 0.490$   $p=0.002$  ve evre-V için;  $15.16 \pm 0.792$  ve  $15.08 \pm 0.646$ ,  $p=0.017$  olarak istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu.(Tablo-V).

Tablo-V: Tanner evresine(pubik ve aksiller) göre kız ve erkeklerin ortalama yaşları

Tanner evresi	Kız(n/yaş)		Erkek (n/yaş)		p
Evre I	11	8.44 ± 0.693	9	8.23 ± 0.812	0.939
Evre II	11	10.52 ± 0.406	8	11.78 ± 0.503	0.002
Evre III	8	11.78 ± 0.491	13	13.20 ± 0.614	0.004
Evre IV	11	12.66 ± 0.334	11	15.07 ± 0.490	0.002
Evre V	9	15.16 ± 0.792	9	15.08 ± 0.646	0.017

#### 05.02. Erkek ve kızlarda s-LH ve s-FSH ile i-LH ve i-FSH arasındaki ilişkiler

Kızların, serum FSH ve LH değerleri ile i-FSH ve i-LH değerleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu(Tablo-VI). Sonuçlar evreler için ayrı ayrı değerlendirildiğinde; Tanner evre1-5 arasına da s-LH ile i-LH ortalamaları arasındaki anlamlılık sırasıyla; Tanner evre-I için:  $1.92 \pm 0.42$ ,  $0.81 \pm 0.31$ ;  $p=0.0024$ , Tanner evre -II için:  $3.28 \pm 0.78$ ;  $1.33 \pm 0.38$   $p=0.0009$ , Tanner evre -III için:  $3.72 \pm 1.33$ ;  $2.32 \pm 0.39$   $p=0.02$ , Tanner evre- IV için:  $4.42 \pm 2.28$ ,  $2.61 \pm 0.31$ ;  $p=0.04$  ve Tanner evre -V için:  $5.35 \pm 1.77$ ;  $3.77 \pm 0.49$ ,  $p= 0.02$  olarak bulunmuştur (Tablo-VI).

Kızlarda, Tanner evrelerine göre s-FSH ile i-FSH ortalamaları arasındaki anlamlılık sırasıyla; Tanner evre-I için:  $2.25 \pm 0.59$ ;  $1.11 \pm 0.63$ ;  $p=0.0137$ , Tanner evre -II için:  $2.62 \pm 1.10$ ;  $1.92 \pm 0.43$   $p=0.0003$ , Tanner evre -III için:  $4.05 \pm 2.02$ ;  $2.30 \pm 0.54$   $p=0.032$ , Tanner evre-IV için:  $4.69 \pm 2.60$ ,  $2.78 \pm 0.54$ ;  $p=0.054$  ve Tanner evre -V için:  $5.19 \pm 2.22$ ;  $2.97 \pm 0.46$ ,  $p= 0.02$  olarak bulunmuştur (Tablo-VI).

Tablo- VI. Kızlarda ortalama serum ve idrar LH ve FSH değerlerinin karşılaştırılması

		Tanner evresi					
		n	1	2	3	4	5
LH (IU/l)	kan	10	$1.92 \pm 0.42$	$3.28 \pm 0.78$	$3.72 \pm 1.33$	$4.42 \pm 2.83$	$5.35 \pm 1.77$
	idrar	10	$0.81 \pm 0.31$	$1.33 \pm 0.38$	$2.32 \pm 0.39$	$2.61 \pm 0.31$	$3.77 \pm 0.49$
	p		<b>0.0024</b>	<b>0.009</b>	<b>0.02</b>	<b>0.04</b>	<b>0.02</b>
FSH (IU/l)	kan	10	$2.25 \pm 0.59$	$2.62 \pm 1.10$	$4.05 \pm 2.02$	$4.69 \pm 2.60$	$5.19 \pm 2.22$
	idrar	10	$1.11 \pm 0.63$	$1.92 \pm 0.43$	$2.30 \pm 0.54$	$2.78 \pm 0.54$	$2.97 \pm 0.46$
	p		<b>0.0137</b>	<b>0.0003</b>	<b>0.032</b>	<b>0.036</b>	<b>0.02</b>

Erkeklerde Tanner evrelerine göre ortalama serum ve idrar FSH değerlerin Tanner evre-I - V arasında, aşamalı olarak arttığı saptanmıştır (Tablo-VII).

Erkeklerde serum FSH ve LH değerleri ile idrar FSH ve LH değerleri karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo-VII).

Sonuçlar evreler için ayrı ayrı değerlendirildiğinde; Tanner evre-I-V arasında s-LH ile i-LH ortalamaları arasındaki anlamlılık sırasıyla; Tanner evre-I için:  $2.95 \pm 0.80$ ,  $0.57 \pm 0.29$ ;

p=0.0031, Tanner evre -II için:  $3.51 \pm 0.91$ ;  $1.33 \pm 0.38$  p=0.0009, Tanner evre -III için:  $3.72 \pm 1.33$ ,  $2.27 \pm 0.43$  p=0.0065, Tanner evre-IV için:  $4.30 \pm 1.32$ ,  $2.27 \pm 0.31$ ; p=0.0004 ve Tanner evre -V için:  $4.50 \pm 1.61$ ;  $2.41 \pm 0.48$ , p= 0.03 olarak bulunmuştur (Tablo-VII).

Tablo- VII. Erkeklerde ortalama serum ve idrar LH ve FSH değerlerinin karşılaştırılması

		Tanner evresi					
		n	1	2	3	4	5
LH (IU/l)	kan	10	$2.95 \pm 0.80$	$3.51 \pm 0.91$	$3.72 \pm 1.33$	$4.30 \pm 1.32$	$4.50 \pm 1.61$
	idrар	10	$0.57 \pm 0.29$	$1.33 \pm 0.38$	$1.66 \pm 0.43$	$2.27 \pm 0.31$	$2.41 \pm 0.48$
	p		<b>0.0031</b>	<b>0.0009</b>	<b>0.0065</b>	<b>0.0004</b>	<b>0.03</b>
FSH (IU/l)	kan	10	$2.51 \pm 0.78$	$4.25 \pm 1.07$	$3.56 \pm 0.90$	$3.78 \pm 0.89$	$5.16 \pm 2.02$
	idrар	10	$0.91 \pm 0.42$	$1.92 \pm 0.74$	$2.30 \pm 0.80$	$2.25 \pm 0.31$	$2.90 \pm 0.59$
	p		<b>0.0015</b>	<b>0.0003</b>	<b>0.0005</b>	<b>0.0005</b>	<b>0.01</b>

Erkeklerde serum FSH idrar FSH arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Sonuçlar evreler için ayrı ayrı değerlendirildiğinde; Tanner evre-I-V arasında s-FSH ile i-FSH ortalamaları arasındaki anlamlılık sırasıyla; Tanner evre-I için:  $2.51 \pm 0.42$ ,  $0.91 \pm 0.42$ ; p=0.0015, Tanner evre -II için:  $4.25 \pm 1.07$ ;  $1.92 \pm 0.74$  p=0.0003, Tanner evre -III için:  $3.56 \pm 0.90$   $2.30 \pm 0.80$  p=0.0005, Tanner evre-IV için:  $3.78 \pm 0.89$ ,  $2.25 \pm 0.31$ ; p=0.0005 ve Tanner evre -V için:  $5.16 \pm 2.02$ ;  $2.90 \pm 0.59$ , p= 0.01 olarak bulunmuştur (Tablo-VII).

Erkeklerin LH/ kreatinin ve FSH/ kreatinin ile kızların LH/ kreatinin ve FSH/ kreatinin değerleri tablo VIII'de özetlenmiştir. Tanner evrelerine göre, hem LH/ kreatinin hem de

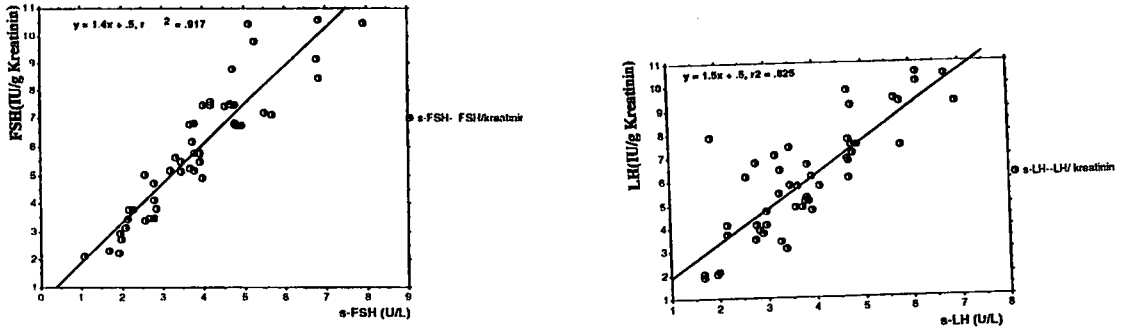
FSH/ kreatinin değerleri arasında artış saptanmış olup, her grup için ayrı ayrı anlamlı olarak değerlendirilmiştir(Tablo- VIII ).

Tablo-VII. Tanner evresi ve cinsiyete göre idrar LH/kreatinin ve FSH/kreatinin değerleri

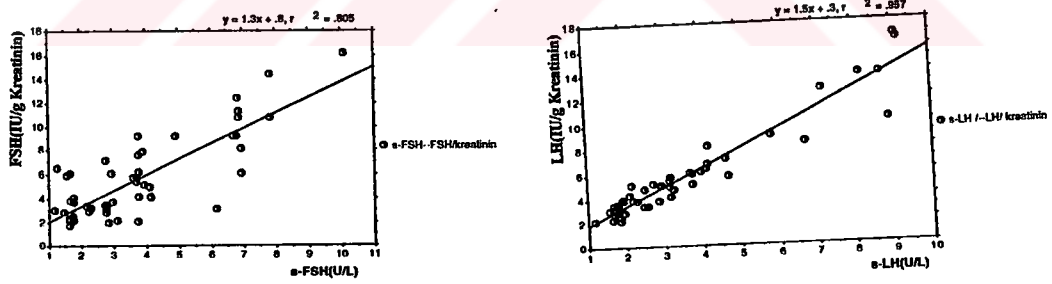
		Tanner evresi					
		n	1	2	3	4	5
kız	LH(IU/g Kreatinin)	10	3.07 ±0.73	5.43 ±1.57	4.60 ±1.76	7.49 ± 4.46	8.33 ± 4.69
	FSH(IU/g Kreatinin)	10	2.83 ±0.74	5.70 ±1.81	4.40 ± 4.30	7.24 ± 4.59	8.27 ± 3.59
erkek	LH(IU/g Kreatinin)	10	4.95 ±1.78	5.67 ±1.74	5.26 ± 2.21	6.92 ± 2.18	7.07 ± 2.96
	FSH(IU/g Kreatinin)	10	4.01 ±1.35	6.43 ±2.12	5.44 ±1.43	6.29 ± 1.95	7.35 ± 2.77

Erkeklerin s-LH ve s- FSH değerleri ile i-LH ve i- FSH değerleri arasındaki ilişki araştırıldığında, s- LH ile i-LH ve s- FSH ile i- FSH değerleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır( sırasıyla:  $r = 0.4388$ ;  $p=0.000$  ve  $r = 0.5299$ ;  $p=0.000$ ) (Tablo-VII, Şekil-16a-b). Ayrıca erkeklerin s-LH ve s- FSH değerleri ile LH/ kreatinin ve FSH/ kreatinin değerleri arasında da arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır( sırasıyla:  $r = 0.8252$ ;  $p=0.000$  ve  $r = 0.8252$ ;  $p=0.000$ )(Tablo-VIII, Şekil-14 a, b).

Kızların s-LH ve s- FSH değerleri ile i-LH ve i- FSH değerleri arasındaki ilişki araştırıldığında, s- LH ile i-LH ve s- FSH ile i- FSH değerleri arasında arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır( sırasıyla:  $r = 0.5140$ ;  $p=0.000$  ve  $r = 0.3736$ ;  $p=0.000$ )(Tablo-VII, Şekil-17 a, b). Ek olarak kadınların s-LH ve s- FSH değerleri ile LH/ kreatinin ve FSH/ kreatinin değerleri arasında da arasında anlamlı bir korelasyon saptanmıştır( sırasıyla:  $r = 0.9554$ ;  $p=0.000$  ve  $r = 0.8058$ ;  $p=0.000$ )(Tablo-VIII, Şekil-15a-b).

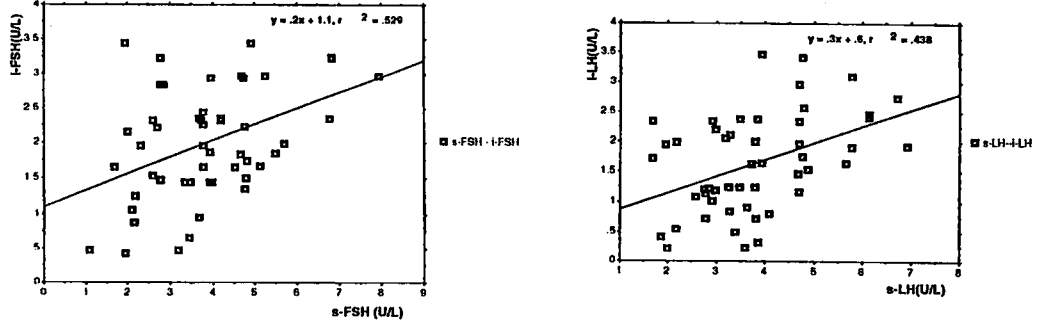


Şekil-14. Erkeklerin s- FSH ve FSH/kreatinin (a) ve s-LH ve LH/kreatinin(b) oranları arasındaki ilişki

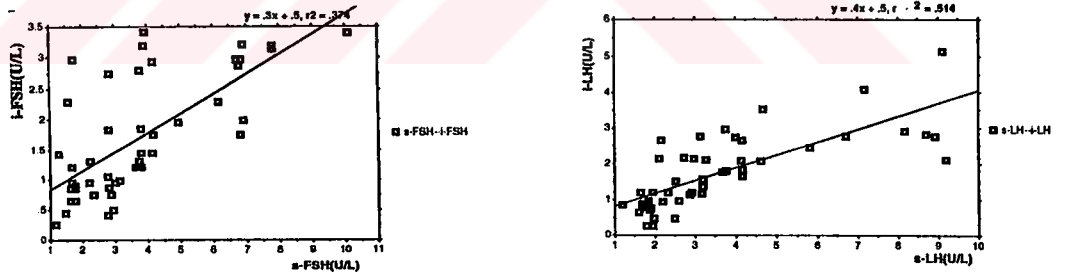


Şekil-15. Kızların s- FSH ve FSH/kreatinin (a) ve s-LH ve LH/kreatinin (b) oranları arasındaki ilişki





Şekil-16. Erkeklerin s- FSH ve i-FSH (a) ve s-LH ve i-LH(b) oranları arasındaki ilişki

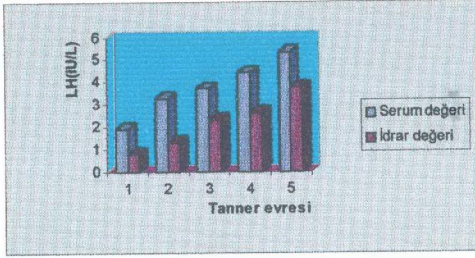


Şekil-17. Kızların s- FSH ve i-FSH (a) ve s-LH ve i-LH(b) oranları arasındaki ilişki

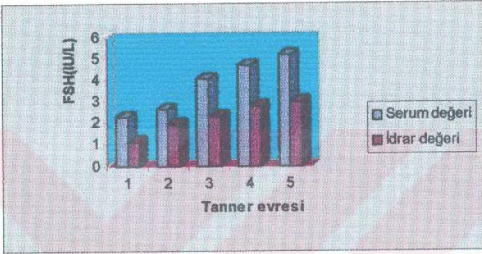
Kız ve erkeklerin Tanner evresine göre, s-LH, i-LH, s-FSH ve i-FSH değişimleri Şekil-17’de verilmiştir. Bu verilere göre, gerek erkeklerde gerekse kızlarda gonadotropinlerin evrelere göre değişimi irdelendiğinde, hem serum hem de idrar gonadotropin düzeylerinde Tanner E-I’den E-II’e geçerken istatistiksel anlamlı artış saptanmıştır( $p=0.001$ ). Diğer evrelerde oluşan düzey artışları anlamlı bulunmamıştır(Şekil-18a-d).



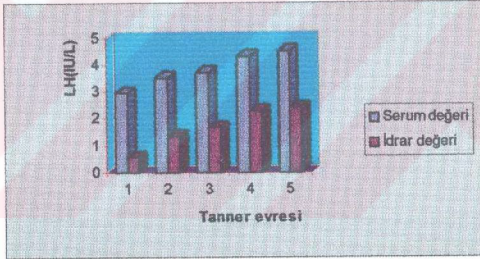
a)



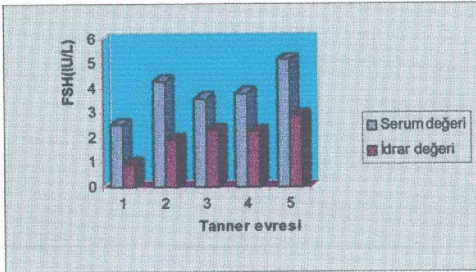
b)



c)



d)



Şekil-18. Tanner evrelerine göre serum ve idrar gonadotropinlerde oluşan değişim (tüm evreler için s-FSH, s-LH, i-FSH ve i-LH E-1 –E-2 değişimi,  $p=0.001$ )

## 06.TARTIŞMA

Çalışma grubunda, pubertal evrelere göre bulunan ortalama yaşlar literatür bulgularıyla uyumluydu. Tablo-I de değişik çalışmacılar tarafından Tanner evresine göre bulunan ortalama yaş ile çalışmamızda bulunan ortalama yaş karşılaştırılmıştır(Tablo-IX).

Tablo-IX: Cinsel gelişim basamaklarına göre ortalama yaş

Çalışma	Erkek							
	genital evre				Pubik kıllanma evresi			
	G2	G3	G4	G5	PH2	PH3	PH4	PH5
Harlan(95)	13.1	13.6	14.7	-	13.1	13.8	14.9	-
Virillarel et al (96)	12.9	14.3	15.5	-	13.2	14.3	15.4	-
Tanner &Davies (101)	11.5	12.4	13.3	-	-	13.1	13.8	-
Roche et al(97)	11.3	12.6	14.5	-	11.3	12.4	14.5	-
Sunulan çalışma	11.85	13.20	15.07	15.08	11.85	13.12	14.93	16.25

Çalışma	kadın							
	meme gelişimi				Pubik kıllanma evresi			
	B2	B3	B4	B5	PH2	PH3	PH4	PH5
Virillarel et al (96)	12.1	13.5	14.4	-	12.2	13.7	14.7	-
Tanner &Davies(101)	10.9	11.9	12.9	-	-	11.9	12.6	-
Roche et al(97)	11.13	12.5	13.8	-	11.3	11.7	13.1	-
Sunulan çalışma	10.42	11.68	12.72	15.25	10.52	11.78	12.66	15.16

Harlan'ın çalışması(95,98) Amerikan sağlık tarama programının 1966- 1970 yılları arasında 12.00-17.99 yaşlarında Amerikan gençlerini kapsadığından; evre 2 ve 3 genital ve pubik kıllanma evreleri diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında belirgin farklılık göstermektedir. Bizim çalışma sonuçlarımız diğer çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Çalışma

sonuçları Tanner ve Davies'in(101) sonuçları ile karşılaştırıldığında; erkekler için G2, G3, G4 ortalama yaşları, bizim çalışmamızda sırasıyla 0.35, 0.40 ve 1.6 yaş daha fazla bulunmuştur. Erkeklerde genital evre diğer çalışma sonuçları ile uyum göstermektedir.

Erkeklerin ortalama pubik kıllanma yaşları, Harlan ve Villareal ile arkadaşlarının çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında PH2 ve PH3 ortalama yaşları çalışmamızda daha düşüktür. Bu bulgu Harlan'ın çalışmasının otuz yıl önce yapılmış olması (pozitif secular trend) ve Villareal'ın çalışmasının Meksikan- Amerikan grubu içermesi ile (sosyo kültürel etkileşme ya da genetik etkilenme) ile açıklanabilir. Pubik kıllanma evreleri Tanner, Davies, Roche ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir (tablo-XI).

Kızlarda meme gelişimi ortalama yaşları Tanner, Davies, Roche ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile benzerdir. Erkeklerdeki genital evrelemeye benzer olarak, meme gelişimi evresi; Villareal ile arkadaşların çalışma sonuçları ile karşılaştırıldığında daha düşük yaş ortalaması bulundu. Kızlarda pubik kıllanma evre ortalama yaşları, diğer çalışmacıların meme gelişimi sonuçlarına benzer olarak Tanner, Davies, Roche ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ile benzer, Villareal ve arkadaşların çalışma sonuçları ile farklı bulundu(Tablo-XI).

Genetik olarak erken puberte Amerika'da yaşayan Afrika kökenlilerde bildirilmiştir. Aynı psiko-sosyal çevre, beslenme alışkanlıkları ve iklim koşullarında yaşayan Amerikan - Afrikalılarında puberte yaşı daha erken bulunmuştur(99,100).

Ülkemizde Neyzi ve arkadaşlarının yaptığı çalışma sonuçları cinsel gelişim evrelerinin başlangıç yaşını gösteren follow-up çalışma olduğundan, çalışma sonuçlarımızla karşılaştırılmamıştır.(22,23). Bizim çalışmamızda verilen değerler ortalama evreyi göstermesine karşın, elde olunan ortalama değerler Neyzi ve arkadaşlarının değerlerinden daha düşük bulunmuştur. Bu bulgu, ülkemizde de sosyoekonomik durumun düzelmesi ve

beslenme alışkanlıklarındaki değişimine bağlı olarak, puberte yaşının küçüldüğüne dolaylı destek olabilir.

İdrar gonadotropinlerini ölçmek için, 24 saatlik idrar örnekleri yerine FMV idrarının kullanıldığı bu çalışma sonucunda; LIA yöntemi kullanarak serum değerleri yerine i-LH ve i-FSH değerlerinin ölçülebileceği sonucuna varılmıştır.

İdrar gonadotropinlerinin ölçümünün, serum gonadotropinlerine alternatif olarak kullanılabilmesi daha önceden değişik yöntemler kullanılarak RIA, IFMA, IRMA ile rapor edilmiştir(1,3,5,14-18). Bizim çalışmamızda da LIA yöntemi kullanarak, FMV idrarında i-LH ve i-FSH değerlerinin serum değerleri ile korelasyon göstermesi, puberte izleminde, pratik ve non-invaziv olan bu testin, serum ölçümlerine alternatif olarak kullanılabilmesini düşündürmüştür. Çalışma sonuçlarımıza göre, pubertal evre artıkça serum ve idrar gonadotropinleri arasındaki farkın azaldığı saptanmıştır. Bu sonucun, pubertenin ortalarına kadar gonadotropinlerin gece pulsatil olarak salgılanması, ileri pubertal evrelerde ise gün boyu sürekli pulsatil olarak salınmasına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Klinik olarak, prepubertal dönemden (evre-1'den evre-2'ye) pubertal döneme geçerken kız ve erkeklerde serum ve idrar FSH ve LH değerlerinde anlamlı artış saptanmıştır. Bu bulgu, pubertenin başlaması ile gonadotropin salgılanmasının artması ile açıklanabilir.

Maekasa ve arkadaşları(17,18), RIA yöntemi kullanarak; FMV idrarı ile 24 saatlik idrarda, LH/ kreatinin ve FSH/ kreatinin atılımı oranları arasında paralellik bulmuşlardır. Ayrıca, Demir ve arkadaşları(90,94), kreatinin ile düzeltilmiş ve düzeltilmemiş i-LH ve i-FSH'nın idrarda atılım oranlarının benzer olduğunu bulmuşlardır. Biz de çalışmamızda, idrar gonadotropinlerinin atılımının kreatinin ile oranlanarak ya da oranlanmadan pubertal evreler boyunca gösterdiği değişimin, serum düzeyleri ile paralel olduğunu bulduk. LIA yöntemi

kullanılarak, idrar gonadotropinlerinin ölçülmesi, IFMA yönteminden farklı olarak, pubertal evre ile i-LH ve i-FSH değerlerinin tek başına pubertal evreyi belirlemede yeterli olmadığını, ek olarak idrar LH/kreatinin ve FSH/kreatinin oranlarına da bakılması gerektiğini ortaya çıkarmıştır. Bunun nedeni, pubertal evrelerin artımıyla birlikte, i-LH ve i-FSH'nın anlamlılığında düşme olurken, LH/kreatinin ve FSH/ kreatinin oranlarındaki anlamlılığın pubertal evre artımından etkilenmemesidir.

Klinik olarak, Tanner evrelemesine göre pubertal evreleme yapılmaktadır. Ancak, klinisyenin direkt fizik incelemesi ile kızlarda %60-93 erkeklerde % 60- 100 oranında doğru tanı konulabilmektedir(102). Her iki cinste ortalama doğru tanı oranı %84 olarak bildirilmektedir(102). Serum gonadotropin düzeylerine bakılarak da pubertal gelişim evreleri tam olarak ayırt edilememektedir. Bu nedenle, Tanner evrelerine göre i-LH ve i-FSH ortalama  $\pm$  SD değerinin çakışmaması, pubertal evrelerin ayrımında kullanılabileceğini düşündürmektedir. Tanner evrelerine göre, i-LH ve i-FSH değerlerin dağılım aralıkları da farklı olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre, LIA yöntemiyle FMV idrarında gonadotropinlerin bakılması pubertal evrelerin ayrılmasında yol gösterici olabilir. Ayrıca, LIA yöntemiyle FMV idrarında aralıklı olarak tekrarlıyan gonadotropin ölçümleri ile, sağlam çocuklarda pubertal evrelerin takibi yapılabilir. Ancak, pubertal evrelere göre ortalama i-LH/kreatinin ve i-FSH/kreatinin değerlerinin saptanması için daha geniş katımlı çalışmalara gereksinim vardır.

Ülkemizde, pubertal evrelere göre gonadotropin atılımının gösterildiği ilk olan, çalışma verilerine göre; pubertal gelişim ve pubertal bozuklukların izleminde serum ölçümlerine alternatif olarak, LIA yöntemi ile i-LH/kreatinin ve i-FSH/kreatinin ölçümünü, daha pratik ve kolay uygulanabilir bir yöntem olarak öneriyoruz.

## 07. SONUÇLAR

Prepubertal ve pubertal evrelere göre kız ve erkeklerde; LIA yöntemiyle serum ve idrar idrar gonadotropinlerinin ölçülüp, s-LH ve s-FSH'sı yerine, alternatif olarak i-LH ve i-FSH'sının kullanılabilirliğinin araştırıldığı prospektif çalışmada, şu sonuçlar elde edilmiştir.

- 1- Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri gibi gelişmiş ülkelere benzer olarak, ortalama puberte başlama yaşının ülkemizde de pozitif seküler bir eğilim gösterdiği bulunmuştur.
- 2- LIA yöntemi kullanarak; FMV idrarında, puberte öncesi ve pubertal evrelere göre i-LH ve i-FSH'sının ölçülebileceği saptanmıştır.
- 3- Serum ve idrar LH ve FSH'nın korelasyon gösterdiği ancak puberte evresi artarken bu ilişkinin zayıf olarak saptandığı ortaya çıkmıştır.
- 4- Pubertal evrelere göre, i-LH ve i-FSH ile serum değerleri arasındaki fark pubertal evreden etkilenirken i-LH/ kreatinin ve i-FSH/ kreatinin de etkilenme saptanmamıştır. Bu nedenle LIA ile yapılacak ölçümlerde idrar gonadotropinlerinin kreatininle oranlanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, pubertede oluşan hormonal değişimi saptamak ve puberte izlemi için idrar gonadotropinlerinin kullanılabilirliği ancak, pubertal evrelerin ortalama LH ve FSH değerlerinin saptanması için geniş katımlı ve kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğu ortaya çıkmıştır.



## 08.ÖZET

İdrarda gonadotropinlerini ölçmek için ilk olarak Bioassay ve Radyoimmunoassay yöntemi kullanılmıştır. Daha sonraki yıllarda daha duyarlı olan Luminecence immunoassay(LIA) ve ileri derecede duyarlı olan İmmuno-Radyometrik assay(IRMA) ve İmmuno-Flourometrik assay(IFMA) yöntemleri kullanılarak idrar gonadotropinleri ölçülmüştür.

Bu çalışmada; LIA yöntemi kullanılarak, serum Luteinizan Hormon(s-LH) ve serum Follikül Stimulan Hormon(s-FSH) değerleri ile sırasıyla idrar Luteinizan Hormonu(i-LH) ve idrar Follikül Stimulan Hormonu(i-FSH) değerleri arasında ilişkinin araştırılması amaçlanıp, prepubertal ve pubertal bozuklukların izleminde, serum ölçümlerine alternatif olarak, daha pratik ve kolay uygulanabilir bir yöntem olması nedeniyle; i-LH ve i-FSH ölçümlerinin kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Tanner evresine göre, her evreden 10'ar olgu -kızlar için(B1-5) ve erkekler için(G1-5)- olmak üzere toplam 100 olgu çalışmaya alınmış, çalışma grubunun evrelere göre ortalama yaşları hesaplanıp, s-LH, s-FSH, i-LH ve i-FSH değerleri ile LH/kreatinin ve FSH/kreatinin değerleri ölçülmüştür.

Erkeklerde Tanner evrelerine göre, s-LH ile i-LH ortalamaları ve s-FSH ve i-FSH arasında anlamlı ilişki saptanmıştır( $p<0.05$ ). Benzer olarak kızlarda da Tanner evrelerine göre s-LH ile i-LH ortalamaları ve s-FSH ve i-FSH arasında anlamlı ilişki saptanmıştır( $p<0.05$ ).

Erkeklerin, s- LH ile i-LH ve s-FSH ile i- FSH değerleri ( sırasıyla:  $r =0.4388$ ;  $p=0.000$  ve  $r=0.5299$ ;  $p=0.000$ ) ve s-LH ve s-FSH değerleri ile LH/kreatinin ve FSH/kreatinin değerleri arasında (sırasıyla:  $r=0.8252$ ;  $p=0.000$  ve  $r=0.8252$ ;  $p=0.000$ ) anlamlı bir korelasyon saptanmıştır.

Kızların, s-LH ile i-LH ve s- FSH ile i-FSH değerleri arasında (sirasıyla:  $r=0.5140$ ;  $p=0.000$  ve  $r=0.3736$ ;  $p=0.000$ ). ve s-LH ve s- FSH değerleri ile LH/kreatinin ve FSH/kreatinin değerleri arasında (sirasıyla:  $r=0.9554$ ;  $p=0.000$  ve  $r=0.8058$ ;  $p=0.000$ ) anlamlı bir korelasyon saptanmıştır.

Sonuç olarak; pratik ve non-invaziv bir test olarak LIA yöntemi ile sabah ilk idrarından idrar gonadotropinlerinin ölümünün, pubertede oluşan hormonal değişimi saptamak ve puberte izlemi için, serum gonadotropin ölümlerine alternatif olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.



## 09.KAYNAKLAR

1. Fitschen W, Clayton BE. Urinary excretion of gonadotropins with particular reference to children. *Arch Dis Child* 1965; 40: 16 - 26.
2. Kulin HE, Rifkind AB, Ross GT, Odell WO. Total gonadotropin activity in the urine of prepubertal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1967; 27: 1123 - 28.
3. Bagshawe KD, Wilde CE, Orr AH. Radioimmunoassay for human chorionic gonadotropin and luteinising hormone *Lancet* 1966; 1: 1118 - 21.
4. Rifkind A, Kulin HE, Cargille CM, Rayford PC, Ross GT. 24- hour urinary luteinising hormone and follicle stimulating hormone excretion in normal children. *J Clin Endocrinol Metab* 1970; 31: 517 - 25.
5. Apter D, Carciate B, Alfthan H, Stenman UF. Serum luteinizing hormone concentrations increase 100-fold in females from 7 years of age to adulthood, as measured by time-resolved immunofluorometric assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989; 68: 53 - 7.
6. Huhtaniemi I, Ding YQ, Tahtela R, Valimaki M. The bio/immuno ratio of plasma luteinising hormone does not change during the endogenous secretion pulse: reanalysis on the concept using improved immunoassay techniques. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 75: 1442 - 45.
7. Chambell S. Biologic to immunological ratios : reevaluation of a concept. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70: 1495 - 95.
8. Jaakkola T, Ding YQ, Kellokumpu-Lehtinen P, Valavaara R, Martikainen H, Tapanainen J, Ronnberg L, Huhtaniemi I. The ratios of serum bioactive /immunoreactive luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in various clinical conditions with increased and decreased gonadotropin secretion: reevaluation by a highly sensitive immunometric assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990; 70: 1497 - 1505.
9. Havisto AM, Dunkel L, Petterson K, Huhtaniemi I. LH measurements by in vitro bioassay and highly sensitive immunofluorometric assay improve the distinction between boys and with constitutional delay puberty and hypogonadotropic hypogonadism. *Pediatr Res* 1990; 70: 21 1- 14.
10. Girard J, Erb T, Pampalone A, Eberle A, Baumann J. Growth hormone in urine: development of ultrasensitive assay applicable to plasma and urine. *Horm Res* 1987; 28: 71 - 80.
11. Dunkel L, Alfthan H, Stenman UH, Selstam G, Rosberg S, Albertson-Wikland K. Development changes in 24- hour profiles of luteinising hormone and follicle stimulating hormone from puberty to midstages of puberty in boys. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992; 74: 890 - 97.
12. Wu FCW, Butler GE, Kelnar CJH, Stirling HF, Huhtaniemi I. Patterns of pulsatile luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in prepubertal (midchildhood) boys and girls and patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism (Kallman's syndrome): a study using an ultrasensitive time-resolved immunoradiometric assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991; 72: 1229 - 37.
13. Dunkel L, Alfthan H, Stenman UH, Perheentupa J. Gonadal control of pulsatile secretion of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in prepubertal boys evaluated by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70: 107 - 14.

14. Dunkel L, Alfthan H, Stenman UH, Tapanainen P, Perheentupa J. Pulsatile secretion of LH and FSH in prepubertal and early pubertal boys revealed by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assays. *Pediatr Res* 1990; 27: 215 - 19.
15. Buourguignon J, Vanderschueren- Lodeweyckx M, Router M, Verindts- Gevaert Y, Gerard A, Franchimont P. Radioimmunoassays of unextracted gonadotropins in timed fractions of 24- hour urine: morning increase of gonadotropin excretion, a pattern in relation to puberty. *Hormon Res* 1980; 13: 367 - 84.
16. Girard J, Hadziselimovic F. Relevance of urinary gonadotropins. *Eur J Pediatr* 1987; 146: 18 - 20.
17. Maeseka H, Suwa S, Tachibana K, Kikuchi N. Quantitation of urinary gonadotropins in normal children. *Pediatr Res* 1990; 28: 401 - 04.
18. Maeseka H, Suwa S, Tachibana K, Kikuchi N. Monthly urinary LH and FSH secretory patterns in normal children and patients with sexual disorders. *Pediatr Res* 1990; 28: 405 - 10.
19. Tanner JM. Growth at adolescence (2<sup>nd</sup> ed). Boston: Blackwell Sci, 1962, pp 28-29.
20. Tanner JM. Trend toward earlier menarche in London, Oslo, Copenhagen, the Netherlands and Hungary. *Nature* 1973; 243: 95 - 7.
21. Macmahom B. Age at menarche. In National Survey DHEW Publication, No.133 (HRA), Series11. Bethesda, MD, 1973: 1.
22. Neyzi O, Alp H, Yalçındağ A, Yakacıklı S, Orphon A. Sexual maturation in Turkish boys. *Ann Hum Biol* 1975; 2: 251 - 59.
23. Neyzi O, Alp H, Orphon A. Sexual maturation in Turkish girls. *Ann Hum Biol* 1975; 2: 49 - 59.
24. Kınık E, Büyükgebiz A, Karaman Ö. Erkek adölesanlarda biyolojik maturasyona ve antropometrik ölçümler. *Çocuk Sağ ve Hastalıkları Dergisi* 1988; 31: 17 - 27.
25. Kelch RP, Beitins IZ. Adolescent sexual development. In: Wilkins The Diagnosis and Treatment of Endocrine Disorder in Childhood and Adolesance (4<sup>th</sup> eds), edited by Kappy MS, Bilizard RM, Migeon CJ. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas Publisher. 1994: pp 194 - 232.
26. Zacharias LM, Rand M, Wurtman R. A prospective study of sexual development in American girls: the statistics of menarche. *Obstet Gynecol Surv* 1976; 31: 325 - 37.
27. Hartz AJ, Barboriak PN, Wong A. The association of obesity with infertility and related menstrual abnormalities in women. *Int J Obes* 1979; 3: 57 - 73.
28. Warren MP. The effect of exercise in pubertal progression and reproductive function in girls. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 1150 - 70.
29. Steyne DM. The Physiology of Puberty. In: Clinical Paediatric Endocrinology (4<sup>th</sup> eds), edited by Brook CGD. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas Publisher, 1994: pp 234 - 252.
30. Zurlo de Mirotti SM, Lesa AM, Barrón de Carbonetti M, Roitter H, Villagra de Lacuara S. Body composition at menarche. Estimation of total body weight, total body water, lean and fat body weight. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba*, 1995, 53 Suppl.; 23-30.
31. Tanner M, Evelent PB. In Puberty, Biologic and Psychosocial Components. (1<sup>st</sup> ed) edited by Berenbergs SR, Leiden, Stenfert Crose H.E. 1975: pp 256.

32. Adelman JP, Mason AJ, Hayflick JS, Seeburg PH. Isolation of gene and hipotalamic cDNA for the common precursor of gonadotropin-releasing hormone and prolactin release-inhibiting factor in human and rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 83: 179 - 83.
33. Schwanzel-Fuduka M, Bick MD, Pfaff DW. Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-expressing cell do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kallmann) syndrome. *Mol Brain Rese* 1989; 6: 11 - 326.
34. Hardelin JP, Levilliers J, Young J et al. Xp22.3 deletions in isolated familial Kallman's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 827 - 31
35. Goski.RA. Maturation of neural mechanisms and the pubertal process. In: *Control of the Onset of Puberty*. edited by Grumbach MM, Sizenenko PC, Aubert ML, eds. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990: pp 259-81.
36. Mellon PL, Windle JJ, Goldsmith PC, Padula CA, Roberts JL, Weiner RI. Immortalization of hypothalamic GnRH neurons by genetically targeted tumorigenesis. *Neuron* 1990; 5: 1-10.
37. Rogol AD, Rood AW. Regulation of Endocrin Sytem. In: *The Diagnosis and Treatment of Endocrine Disorder in Childhood and Adolesance* (4<sup>th</sup> eds), edited by Kappy MS, Bilizard RM, Migeon CJ. Siproingfield, Ilionnosis, Charles C. Tohomas Publisher,1994: pp 41-108.
38. Reichlin S. Neuroendocrinology. In: Wilson J, Foster D, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1992-5.
39. Belchetz PE, Plant TM, Nakai Y, Keogh EJ, Kenobil E. Hypophyseal responses to continuous and intermittent delivery of hypothalamic gonadotropin -releasing hormone. *Science* 1978; 202: 631 - 33.
40. Huckle W, Conn PM. Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone action II The effector system. *Endocrine Rev* 1988; 9: 387 - 95.
41. Pierce JG, Parsonse TF. Glycoprotein hormones: structure and function. *Annu Rev Biochem* 1981; 50: 465 - 95.
42. Fiddes LC, Talmadge K. Strecture, expenresion, and evolution of the genes for the human glycoprotein hormones. *Rec Porg Horm Res* 1984; 40: 43 - 78.
43. Kovacs K, Horvath E. Gonadotrophs folowing removal of the ovaries: a fine structural study of human pituitary glands. *Endokrinologie* 1975; 66: 1 - 8.
44. Kordon C, Drouva SV, Enjelberi A. The hypothalamic control of GnRH secretion. In: *Control of the Onset of Puberty III*. Delemare-van de Waal HA, Plant TM, van Rees GP, Schoemaker J (eds). Amsterdam, Excerpta Medica, 1989: p 79.
45. Crowley WF, Filicori M, Spratt DI, Santoro NF. The physiology of gonadotropin releasing hormone (GnRH) secretion in men and women. *Res Porg Horm Res* 1985; 41: 473 - 526.
46. Massy GS. In: *The Kidney and Endocrine System*. Tektbook of Neprology (2<sup>nd</sup> eds), edited by Massry SG, Glassock RJ. Ilionnosis, Charles C. Tohomas Publisher, 1989: pp 157 - 58.
47. Urban RJ, Padmanabhan V, Betins I. Metabolic clearance of hFSH assessed by radioimmunoassay, immunometric assay, and invitro Sertoli cell bioassay. *J Clin Endocrinol Metab*1991;73: 818 - 23 .
48. Veldhuis JD, Fraioli F, Rogol AD et al Metobolic clearence of biologically active luteinizing hormone in man. *J Clin Invest* 1991; 77: 818 -22 .

49. Marshall JC, Kelch RP. Gonadotropin-releasing hormone: role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction. *N Engl J Med* 1986; 315: 1459-68.
50. Janner MR, Klech RP, Kaplan SL, Grumbach MM. Hormonal changes of puberty IV. Plasma estradiol, LH and FSH in prepubertal children, pubertal females, and in precocious puberty, premature thelarche, hypogonadism, and in a child with a feminizing ovarian tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34: 521-30.
51. Grumbach MM. Onset of Puberty, In *Biologic and Psychosocial Components*. (1<sup>st</sup> ed) edited by Berenbergs SR, Leiden, Stenfert Crose H.E. 1975: pp 1 - 21.
52. August GP, Grumbach MM, Kaplan SL. Hormonal changes in puberty III. Correlation of plasma testosterone, LH and FSH in prepubertal children, testicular size and bone age with male pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34: 319 - 26.
53. Ritzén EM. Reproductive Endocrinology- The Testis. In: *Clinical Paediatric Endocrinology* (4<sup>th</sup> eds), edited by Brook CGD. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas Publisher, 1994: pp 298-309.
54. Müller J, Skakkebaek NE. The prenatal and postnatal development of testis. In: De Kretser MD, Baillière's *Clinical Endocrinology and Metabolism*. London: Baillière Tindall, 1992: 251 - 1.
55. Backhouse KM. Embryology of the normal and cryptorchid testis. In: Fonkalsrud EW, Mengel W eds. *The Undescended Testis*. Chicago: Year Book Medical, 1981: 5-29.
56. Baker TG. A quantitative and cytological study of germ cells in human ovaries. *Proc R Soc Lond (Biol)* 1963; 158: 417 - 33.
57. Huntaniemi IL, Yamamoto M, Ranta T, Jalkanen J, Jaffe RB. Follicle-stimulating hormone receptors appear earlier in the primate fetal testis than in the ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 1210 - 14.
58. Baker T, Scrimgeour J. Development of gonad in normal and anencephalic human fetus. *J Reprod Fertil* 1980; 60: 193 - 99.
59. Miller W. Molecular biology of steroid hormone synthesis. *Endocr Rev* 1988; 9: 295 - 311.
60. Peters H, Himmelstein-Braw R, Faber M. The normal development of the ovary in childhood. *Acta Endocrinol* 1976; 82: 617 - 30.
61. Dunkel L, Alfthan H, Stenman UH, Tapanainen P, Perheentupa J. Pulsatile secretion of LH and FSH in prepubertal and early pubertal boys revealed by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assay. *Pediatr Res* 1990; 27: 215 - 19.
62. Dunkel L, Alfthan H, Stenman UH, Perheentupa J. Gonadal control of Pulsatile secretion of LH and FSH in prepubertal boys evaluated by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 107 - 114.
63. Adams J, Franks S, Polson D, Wood DF. Multifollicular ovaries: clinical and endocrine features and response to pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *Lancet* 1985; 2: 1375 - 79.
64. Leung PK, Steele GL. Intracellular signaling in the gonads. *Endocr Rev* 1992; 13: 476-98.
65. Findlay JK. Growth factors in endocrinology - the ovary. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1991; 5: 755-69.
66. Wood DF, Franks S. Reproductive Endocrinology- The Ovary. In: *Clinical Paediatric Endocrinology* (4<sup>th</sup> eds), edited by Brook CGD. Springfield, Illinois, Charles C. Thomas Publisher, 1994: pp 288 - 97.

67. DeRidder CM, Thijsen JHH, Burinnig PF, Van Den Brande JL, Zonderland ML, Erich WBM. Body fat mass. Body fat distribution, and pubertal development: a longitudinal study of physical and hormonal sexual maturation of girls. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 43: 442 - 46.
68. Marshall WA, Tanner JM. Variation in pattern of pubertal changes in girls. *Arch Dis Child* 1969; 44: 291 - 303.
69. Marshall WA, Tanner JM. Variation in pattern of pubertal changes in boys. *Arch Dis Child* 1970; 45: 13 - 23.
70. Reynolds EL, Wines JV. Individualized differences in physical changes associated with adolescence in girls. *Am J Dis Child* 1948; 75: 329 - 50.
71. Zachmann M, Prader A, Kind HP, Hafliger H, Budliger H. Testicular volume during adolescence. *Helv Paediatr Aca* 1974; 29: 61-72.
72. Depertius CW, Atkinson WB, Elftman H. Sex differences in pubic hair distribution. *Hum Biol* 1945; 17: 13 - 23.
73. Van Wiringeren JD, Wafelbeker F, Verbrugge HP. Growth diaframs 1965 Netherlands; Second National Survey on 0-24- year olds. The Netherlands Institute for Preventative Medicine TNO Goriningen: Wolters- Noordhoff, 1971.
74. Gondos B, Kogan SJ. Testicular Development During Puberty. In: Control of Onset of puberty, edited by Grumbach MM, Sizeko PC, Aubert MI eds. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990: 387- 402.
75. Richardson DW, Short RV. Time of onset of sperm production in boys. *J Biosos Sci(Suppl)* 1978:15 - 25.
76. Augst GP, Grumbach MM, Kaplan SL. Hormonal changes in puberty III. correlation of plasma testosterone, LH, FSH, testicular size, and bone age with male pubertal development. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 34: 319 - 26.
77. Waaler PE, Thorsen T, Stoa KF, Aeskog D. Studies in normal male puberty. *Acta Paediatr Scand(Suppl.)* 1974; 5: 1- 36.
78. Karth- Schulz S, Levine LS, New MI. Serum androgens in normal prepubertal and pubertal children and in precocious adrenarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1976; 42: 117 - 24.
79. Marynick SP, Chakmakjian ZH, McCaffree DL, Herndon JH. Androgen excess in cystic acne. *New Engl J Med* 1983; 308(1): 981 -84 .
80. Tanner JM. The relationship of puberty to other maturity indicators and body composition in man. *Symp Soc Stud Hum Biol* 1965; 6: 211 - 16 .
81. Cheek DB, Grumbach MM, Grave GD. In: Control of onset of puberty. New York, John Wiley & Sons 1974; 424 .
82. Kinsey AC, Pomeroy WB, Martin CE. Sexual behaviour in the human male. Philadelphia, W.B. Saunders, 1948.
83. Richardson DW, Short RV. Time of onset of sperm production in boys. *J Biosos Sci Supl* 1978; 5: 15 - 25.
84. Laron Z, Arad J, Gurewitz R, Grumebaum M, Dikerman Z. Age at first conscious ejaculation: a milestone in male puberty. *Helv Pediat Acta* 1980; 5: 13 -20
85. Karlberg P, Taranger J. The somatic development of children in a Swedish urban community. *Acta Paediatr Scand(Suppl.)* 1976; 256:1 - 148.
86. Rhon RD. Papilla (nipple) development during female puberty. *J Adolesc Hlth Care* 1982; 75: 217 -20.

87. Büyükgebiz A, Kınık E. Nipple development in female puberty. *Turkish J Pediatr* 1989; 31: 275 - 79.
88. Büyükgebiz A, Kınık E. Pubertedeki kızlarda areola genişlik ölçümleri. *Çocuk Sağ ve Hast Dergisi* 1990; 33: 229 - 32.
89. Frisch RE, Revelle R. Height and weight at menarche and a hypothesis of critical body weights and adolescent events. *Science* 1960; 169: 397 - 404.
90. Demir A, Alfthan H, Stenman UH, Voutilainen. A clinical useful method for detection of gonadotropin in children: luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone from urine as an alternative to serum by ultrasensitive time-resolved immunofluorometric assays. *Pediatr Res.* 1994; 36: 221- 6.
91. Livesey JH, Roud M, Metcalf G, Donald RA. Glycerol prevents loss of immunoreactive FSH and LH from frozen urine. *J Endocr* 1983; 98: 381 - 84.
92. Fabbri A, Jannini EA, Ulisse S, et al. Low serum bioactive luteinizing hormone in nonorganic male impotence: possible relationship with altered gonadotropin-releasing hormone pulsatility. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988; 67: 867 - 75.
93. Kulin HE, Moore Jr RG, Santner SJ. Circadian rhythms in gonadotropin excretion in prepubertal and pubertal children. *J Clin Endocrinol Metab.* 1976; 42: 770 - 3.
94. Demir A, Voutilainen. A Juul A, Dunkel L, Alfthan H, Skakkebaek NE, Stenman UH, Increase in first morning voiding urinary luteinizing hormone levels precedes the physical onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 2963 - 67.
95. Harlan WR, Grillo GP, Cornni-Huntley J, Leverton PE. Secondary sex characteristics of boys 12 to 17 years of age: The U.S. Health Examination Survey. *J Pediatr* 1979; 95: 293 - 97.
96. Villarreal SF, Martorell R, Mendoza F. Sexual maturation of Mexican -American adolescents. *Am J Hum Biol* 1989; 1: 87 - 95.
97. Roche AF, Welles R, Attie KM, Siervogel RM. The timing of sexual maturation in a group of US white youths. *J Ped Endocrinol Metab* 1995; 8: 11 - 18.
98. Harlan WR, Harlan EA, Grillo GP. Secondary sex characteristics of girls 12 to 17 years of age: The U.S. Health Examination Survey. *J Pediatr* 1980; 96: 1074 - 78.
99. Herman-Giddens HE, MacMillan JP. Prevalence of secondary sex characteristics in a population of North Carolina girls ages 3 - 10. *Adolesc Gynecol* 1991; 4: 21- 26.
100. Herman-Giddens HE, Slora EJ, Hasemier CM, Wasserman RC. The prevalence of secondary sexual characteristics in young girls seen in office practice. *Am J Child* 1993; 147: 455 .
101. Tanner JM, Davies PW. Clinical longitudinal standards for height and height velocity for North American children *J Pediatr* 1985; 3: 327 - 29.
102. Matsudo SMM, Matsudo VKR. The projective self evaluation method in the determination of sexual maturation among boys and girls. *Am J Hum Biol* (in press).