

Erkek hipogonadotropik hipogonadizmde kiss1 inaktive edici mutasyon sıklığı ve hipotalamik-pituiter-gonad aksı ile ilişkisi

Eylem ÇAĞILTAY(*), Mustafa KAPLAN(**), İsmail YILMAZ(***), Hakan TEREKECİ(**), Ferhat DENİZ(*), Arif YÖNEM(*), Cihan TOP(**)

ÖZET

Amaç: İdiyopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm (IHH) etyolojisi net olarak açıklanamayan bir tablodur. Hipofizden gonadotropinlerin (FSH ve LH) salınımının temel düzenleyicisi gonadotropin releasing hormondur (GnRH). GnRH salgısı hipotalamusun diğer merkezlerinden ve başka alanlardan gelen bir takım hormonal faktörlerce düzenlenir. GnRH salgısını düzenleyen faktörlerden biri de kisspeptindir. Son yıllarda kisspeptin mutasyonlarının IHH etyolojisinde rolü olabileceğine ilişkin çalışmalar bildirilmiştir. Biz de bu çalışmada erkek IHH'li hastalarda KISS1 inaktive edici mutasyon varlığını araştırdık.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmaya IHH bulunan 50 adet erkek hasta dahil edildi. Bu hasta grubundan alınan kan örneklerindeki lenfosit ve granülositlerden genomik DNA ekstraksiyonu yöntemi ile elde edilen DNA örneklerindeki KISS1 mutasyonlarını tespit etmek için forward ve reverse primerler kullanılarak genin mutasyon görülme 3. ekzon bölgesi PCR yöntemi ile çoğaltıldı ve sekans analizi ile mutasyon analizi yapıldı.

Bulgular: Çalışma grubumuzdaki 50 hastada KISS1 geninin mutasyon görülme 3. Ekzon bölgesinde forward ve reverse okumalarda hiçbir hastada nükleotid değişikliği (KISS1 inaktive edici mutasyon) saptanmadı.

Tartışma: Kadın IHH hastalarında tanımlanmış olan bu mutasyonun erkek IHH olgularında tespit edememiş olmamız bu mutasyonun nadir görülen bir mutasyon olması ile ilgili olabilir. IHH'nin moleküler nedenlerini tamamen ortaya koyacak daha geniş kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm, KISS1 İnaktive Edici Mutasyon, KISS1, kisspeptin

SUMMARY

Aim: The aetiology of Idiopathic Hypogonadotropic Hypogonadism (IHH) has not been clearly understood. Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) is the major regulator of pituitary gonadotrophins (FSH and LH). GnRH secretion is regulated by some hormonal factors coming from other parts of hypothalamus and some other areas. One of the factors regulating GnRH secretion is kisspeptin. Recently, some studies have shown that kisspeptin mutations may have a role at the aetiology of IHH. In our study, we have measured the frequency of inactivating KISS1 mutation at the male IHH patients.

Material and Methods: In this study, we have included 50 male IHH patients. Using the DNA samples gathered by genomic DNA extraction technique from the lymphocyte and granulocyte of the blood samples of IHH patients, we have proliferated the 3. exon region of the gene by PCR technique to detect KISS1 mutations with reverse and forward primers. The mutation analyses have been made with sequence analysis.

Results: We have not detected a nucleotide differentiation (KISS1 Inactivating Mutation) after reverse and forward reading of 3. Exon region of the KISS1 gene that contains the mutation the at the 50 patients in our study group.

Conclusion: This mutation that has been identified at female IHH, has not been detected in our male IHH study group. It can be concluded that this finding is because of the the rarity of this specific mutation. We think that new and more expanded studies should be build for clearly identifying the molecular causes of IHH.

Key words: Idiopathic hypogonadotropic hypogonadism, KISS1 Inactivating Mutation, KISS1, kisspeptin

Giriş:

Erkek hipogonadizmi temel olarak testislerin iki temel görevi olan testosteron ve/veya sperm üretimindeki yetersizliktir. Gecikmiş puberte ile karışması, hastaların rahatsızlıklarını söylemedeki sıkıntıları ve diğer nedenler yüzünden tanısı gecikmektedir (1). Sonuçta hasta birey biyopsikososyal sorunlar ile karşılaşmaktadır. Jinekomasti, osteoporoz, obezite, jineko-id yağlanma dağılımı, dislipidemi, infertilite, sosyal izolasyon, psikolojik sorunlar bu hasta grubundaki bireylerin karşılaştığı problemlerden bazılarıdır (2).

Hipogonadizmi, primer: testiküler kaynaklı, sekonder: hipofizer kaynaklı ve tersiyer hipogonadizm: hipotalamik kaynaklı olarak sınıflandırmak mümkündür. Hipotaloma-pituiter-testiküler (HPT) aksta oluşan hormonal üretim veya ileti defektleri ve bazen de direnç sendromları nedeniyle hipogonadizm gelişmektedir. Hipogonadotropik hipogonadizmde hipofizer FSH ve LH düzeyleri düşük olarak saptanmaktadır (3,4). Hipofizer FSH ve LH hormonları hipotalamik GnRH hormonun uyarımı ile salınmaktadır. Pulsatil GnRH gonadotropin genindeki GnRH reseptörlerine etki ederek, gonadotropin gen ekspresyonunu, hormon sentezini ve sekresyonunu stimüle etmektedir. Hipofizer gonadotropinler, luteinize edici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormon (FSH), erkeklerde ve kadınlarda gonadlarda steroid üretiminde ve gametogenezde görev alır. Gonadotropin üretimi, hipotalamik GnRH üreten nöronların ve hipofizer gonadotrop hücrelerin normal gelişim ve fonksiyonlarını gerektirmektedir (5).

Lee ve arkadaşları 1996'da malign melanom tümör metastazlarında KISS1 genini rapor etmişlerdir. KISS1 tarafından sentezlenen kisspeptin'in meme kanseri ve malign melanom metastazlarını supresör etkisi vardır ve bu yüzden 'metastin' olarak isimlendirilmiştir. Metastatik ve metastatik olmayan malign melanom ayırımında kullanışlı bir marker olabileceğini düşünmüşlerdir (6).

West ve arkadaşları ise 1998'de KISS1 geninin kromozomal lokalizasyonunu bulmuşlardır (7). KISS1 geni (1q32) tarafından üretilen 145 aminoasitlik bir öncül proteinden türeyen ve GPR54 üzerinden etkilerini gösteren peptidlerin kisspeptin nöropeptid ailesini oluşturduklarını bilmekteyiz (Şekil 1) (8-9-10).

Kisspeptin hipokampal dentad gyrusta (L kromozomda KISS1 geni tarafından) sentezlenen bir peptiddir. Etkisini GPR54 (G Protein-coupled reseptör) reseptörlerle göstermektedir (11). Kisspeptin GnRH nöronlarının güçlü bir uyarıcıdır. Bu yüzden de hipogonadotropik hipogonadizm etyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir. Bu gen ve reseptöründeki mutasyonlar HPT akstaki fizyolojiyi bozarak santral kaynaklı hipogonadizme neden olur. Hastalığı oluşturan genlerin tanımlanması ile hastalık meydana gelmeden engellemek, doğacak komplikasyonları engelleyecek ve etkilenecek bireyi ömür boyu sürecek bir hastalıktan kurtaracaktır (12,13).

(*) Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Kliniği
(**) GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği
(***) Gata Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Patoloji Kliniği

Ayrı Basım İsteği: Mustafa KAPLAN
GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, İç Hastalıkları Kliniği, Üsküdar, 34668, İstanbul, TÜRKİYE
Tel No: 0 216 542 20 20 - 3422
Mail: dr_mustafakaplan@yahoo.com

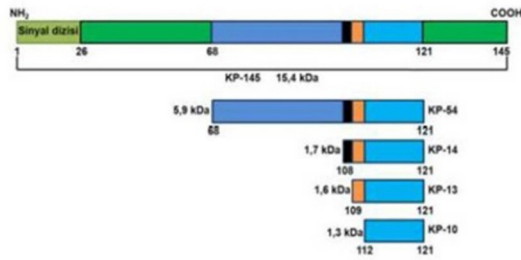
Makalenin Geliş Tarihi: Dec 01, 2014 • Kabul Tarihi: Mar 16, 2015 • Çevrim İçi Basım Tarihi: 15 MART 2015

Bu çalışmadaki amacımız yakın dönemde ülkemizdeki bir ailenin 4 bayan hipogonadotropik hipogonadizm bireyinde bildirilmiş olan inaktive edici KISS1 mutasyonunun (10-13), hipogonadotropik hipogonadizm tanısı ile takip edilen 50 genç erkekte oluşan bir örneklemdeki oranını saptayarak, hipogonadotropik hipogonadizmin moleküler nedenlerindeki rolünü ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem:

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Servisine müracaat eden 18 yaşından büyük toplam 50 erkek hipogonadotropik hipogonadizm tanılı hasta bilgilendirilmiş onamları alınması sonrası çalışmaya alındı. Hastalığın tanısı; klinik bulgular, hormonal inceleme, laboratuvar ve görüntüleme yöntemleriyle kondu. Erkek İHH tanısı hastalıkla uyumlu anamnez ve fizik muayene bulgularının tespit edilmesi ve LH, FSH, serbest ve total testosteron düzeylerinin düşük ölçülmesi ile kondu. Anamnezde; hipogonadizmin başlama yaşı, medeni hali, daha önce çocuk sahibi olup olmadığı, libido durumu, ereksiyon ve ejakülasyonun yeterli olup olmadığı öğrenildi. Daha önce ilaç kullanıp kullanmadığı ve ne kadar süre kullandıkları sorgulandı. Fizik muayene bulgularından boy, kilo, kulaç boyu, bel çevresi ölçümleri yapıldı. Tüm hastalara İHH tanısı kondu. Hastaların tamamı bekardı. Çalışmaya tedavi alan ve almayan hastalar birlikte alındı.

Şekil-1: Kisspeptin 145 AA'lık kisspeptin 10-kp13-kp14-kp54 bölünmesi



Şekil 1: Kisspeptin 145 AA'lık kisspeptin 10-kp13-kp14-kp54 bölünmesi

Dahil olma ve dışlanma kriterleri:

Tanı kriteri olarak Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği'nin (TEMĐ), Adrenal ve Gonad Hastalıkları Kılavuzu 2014 esas alındı (15). Erkek hipogonadizmi tanısı için uygun semptom ve bulgular ile uyumlu düşük testosteron düzeyleri saptandı.

Hasta grubunda klinik olarak seksüel gelişim gecikmiş veya tamamlanmamış olarak izlendi. Vücut kıllanmasında azalma gözlemlendi. Testis volümleri 5 ml'nin altında idi. Tanner evresi G1-2, P1-2 olan hastalar çalışmaya alındı.

Sabah total testosteron düzeyi ölçüldü ve tanı en az 2 kez tekrarlanan ölçümler ile teyid edildi. SHBG düzeyinde değişikliğe yol açan obezite, yaşlılık, nefrotik sendrom, hepatik siroz, glukokortikoid kullanımı, antikonvulzan kullanımı, hipotiroidizm, hipertiroidizm gibi hastalıkları olan bireyler çalışmaya dahil edilmedi.

Hastalarda Hipogonadotropik hipogonadizme neden olabilecek bir cerrahi operasyon veya tanımlanmış bir kraniyal radyolojik bulgu yoktu. Hipogonadizme neden olabilecek panhipofizer hastalığı olan, primer hipogonadizmi olan, hiperprolaktinemi olan, inmemiş testis hikayesi olan ve hipogona-

dizme neden olabilecek bir ilaç kullanan hastalar çalışmaya alınmadı. Hiç birinde hormonal dengeli ve metabolizmayı etkileyebilecek başka bir hastalık veya ilaç kullanımı yoktu.

Çalışmaya dahil edilen olguların tamamına bilgilendirme ve gönüllü rıza (olur) formu okutularak imzaları alınmış, takip protokolünü içeren hazırlanmış olduğumuz Hasta Takip Formu doldurulmuş, hastalar bu protokol çerçevesinde izlenmiştir.

Hipogonadotropik hipogonadizm tanısı almış yani LH ve FSH düzeyleri düşük veya normal, testosteron düzeyleri düşük olan hastaların sabah 8 civarında serum örnekleri alındı. Hasta grubunun rutin tetkikleri esnasında alınan venöz kan örneklerinden arta kalan kanlardan mutasyon çalışması için kan ayrılmış ve örneklerin -80 derece dolabında saklanması sonrası aradığımız mutasyon GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Patoloji Servisi'nde topluca çalışılmıştır. Yine hipogonadotropik hipogonadizm hastalarının rutin klinik takiplerinde bakılan LH, FSH, testosteron ve diğer değerleri GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılmış ve sonuçlar kaydedilmiştir.

Çalışmanın Etik Yönü:

Bu tez çalışması için GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 31.10.2013 Tarih ve 19 nolu oturumunda etik ilkelere uygun olduğuna karar verilmiştir. Hastanemizin Epidemiyolojik Çalışma Grubu'ndan 10.10.2013 tarih ve Lab. Böl. Bşk: 4013-303-12 sayılı kararı ile çalışmanın bilimsel uygunluğu ve bildirilen maliyetinin karşılanacağına dair onay alınmıştır. Hastalara rutinde yaptırdıkları tetkikler dışında herhangi bir müdahalede bulunulmamış olup, ayrıca hastalığın seyrini kötüleştirecek ya da hastaya zarar verecek bir müdahale yapılmamıştır.

Örnekler ve Ölçümler:

Aradığımız mutasyon p.115N->K mutasyonudur. Bu mutasyon Sitozinden Guanine nukleotid değişimine (National Center for Biotechnology Informatics [NCBI] reference sequence NM_002256.3:c.345C->G) ve 115'inci aminoasit rezidüsünde asparajinin lizin ile yer değişimine (NCBI sequence NP_002247.3:p.115N->K) neden olmaktadır. Çalışmamızda aradığımız homozigot mutasyon varlığı defektif endojen kisspeptin oluşturarak, GnRH üzerindeki kisspeptin reseptörlerinin aktive olamamasına ve sonuç olarak GnRH sentezinin oluşmamasından dolayı komplet gonadotropin yetersizliğine neden olmaktadır. Sonuç ise klinik olarak komplet normosmik idiopatik hipogonadotropik hipogonadizmdir ve kisspeptin sinyalinin insan HHT akstaki vazgeçilmez rolünü ortaya koymaktadır (1).

DNA Ekstraksiyonu

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundan alınan tam kan örneklerindeki lenfosit ve granülositlerden genomik DNA ekstraksiyonu QIAamp DNA Blood Mini Kit (250) (katolog #: 51106) (QIAGEN, Hilden, Germany) kullanılarak protokole uygun olarak gerçekleştirildi.

PCR Reaksiyonu

Çalışmaya dahil edilen hasta grubundan alınan kanlarından elde edilen DNA örneklerindeki KISS1 mutasyonlarını tespit etmek için forward ve reverse primerler kullanılarak genin mutasyon görülen 3. ekzon bölgesi çoğaltıldı ve sekans analizi ile mutasyon analizi yapıldı.

Agaroz Jel Elektroforez İşlem

KISS1 geninin 3. ekzon bölgesi PCR ile çoğaltıldıktan sonra etidyum bromid (Et-Br) ile boyanmış %1.5'lük agaroz jele yük-

Kaplan ve ark.

lenerek ürünlerin elektroforezi yapıldı. Hazırlanan jelde hasta ve negatif kontrol örneklerinde beklenen uzunlukta (341 bp) PCR ürünleri gözlemlendi. Bu, büyüklükleri belli DNA fragmentlerini içeren moleküler ağırlık standardı ile kıyaslanarak saptandı. Kontaminasyon kontrolü için yapılan genomik DNA içermeyen kuyucukta PCR ürünü yoktu.

PCR ürünlerinin pürifikasyonu

PureLink® PCR Purification Kit (katolog #: K3100-01) (Invitrogen Life Technologies, USA) kullanılarak protokole uygun olarak gerçekleştirildi.

Sekans analizi

Pürifiye PCR ürünleri BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems) ile aşağıdaki protoküle uygun olarak çift yönlü (forward ve reverse) olarak ABI-3730 (48 kapiller) DNA Sequencer (Applied Biosystems, USA) cihazında sekanslandı.

Bulgular

KISS1 geninin mutasyon görülen 3. Ekzon bölgesinde forward ve reverse okumalarda hiçbir hastada nükleotid değişikliği (mutasyon) saptanmadı.

Tartışma

Çocukluktan erişkinliğe geçişin gerçekleştiği puberte sürecinin nasıl başladığı bilinmemektedir. Hipotalamusta bulunan "GnRH pulse generator" çocukluk çağı boyunca baskılanmıştır. İnsan yaşamının ikinci 10 yılının başlarında bu inhibisyonun kalkması ile "GnRH pulse generator"ın kontrolü altındaki Gonadotropik Serbestleştirici Hormon (GnRH) nöronlarından GnRH salgısı başlar ve hipotalamo-hipofizer-gonadal eksen aktive olur. Ancak bu inhibisyonun kalkmasını, dolayısıyla puberte sürecinin başlamasını sağlayan mekanizma ve bu mekanizmada yer alan faktör(ler) bilinmemektedir (1). 2005 yılında Science Dergisi'nde 'Ergenlik sürecini ne başlatıyor' sorusu günümüz biliminin bütün alanlarında yanıtı olmayan 125 sorudan birisi olarak sorulmuştur (14).

İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm; genetik nedeni tam olarak ortaya konamamış olan ve hipofizden gonadotropin salgılanmasındaki bozukluk sonucu ortaya çıkan klinik tablodur. LH ve FSH salgısı yetersiz veya eksik olduğundan, testisin Leydig hücresinden testosteron salgısı ve Sertoli hücresinden de sperm yapımı yetersizdir. Hastalar puberte yaşına geldiğinde, sağlıklı bir şekilde puberteye giremez ve sekonder seks karakterleri gelişmez. Libido yetersiz, ereksiyon ve ejekülasyon bozuktur. Hastalarda genellikle infertilite vardır. Cinsel gelişim bozukluğunun yanı sıra; kas-iskelet sistemi bozukluğu, osteoporoz, anormal vücut yağ dağılımı, anemi ve psikiyatrik bozukluklar gibi bir çok organ ve sistemi etkileyen komplikasyonlar görülmektedir. HH tanısı; LH ve FSH, serbest ve total testosteron seviyelerinde düşüklük, bununla uyumlu anamnez ve fizik muayene bulgularıyla konur. Gonadotropin salgısındaki bozukluğun nedeninin saptanması, hem etyolojiye yönelik tedavinin uygulanmasında hem de tedavi şeklinin belirlenmesinde önemlidir (15).

Kisspeptin hipotalamik nükleuslardan (arcuat ve AVPV nükleusları) sentezlenerek GnRH nöronlarını uyarmaktadır. Bu uyarıcı etki testosteronun feedback mekanizması ile kontrol edilmektedir. Ayrıca kisspeptin 154 amino asitlik yapısı daha küçük peptid yapıları (kp54, kp13, kp10, kp14) ayrılmaktadır. Bu peptid yapıların periferik ve santral etkileri de mevcuttur. Artmış testosteron düzeyleri negatif feedback ile kisspeptini inhibe eder. İndirek olarak LH ve FSH salgısı azalır. İHH hastalarında gonadotropik hormon düzeyleri düşüktür (10).

Bu çalışmada esas olarak İHH tanısı konulan hastalarda hipogonadizmin moleküler nedenlerinden biri daha ortaya konmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızın kliniğe yansımaları açısından da KISS1 geninin kodladığı kisspeptin adlı proteininin benzerleri oluşturularak, pubertesi başlayamayan bireyler için tedavi üretilebilir. Kisspeptinin tersi bir molekül üretilerek, erken puberte sürecine girmiş kişilerin tedavisinde ilaç olarak kullanılabilir. Doğum kontrol yöntemi olarak kullanılabilir. Bazı kanser türleri, özellikle kadınlarda meme, erkeklerde prostat kanserine karşı insanda cinsiyet hormonlarının üretimi durdurularak bu kanserlerin ilerlemesi yavaşlatılabilir.

Üreme ile ilgili bozuklukların biyopsikososyal sonuçları vardır. Hem hasta hem de toplum açısından önemli sosyal, medikal ve ekonomik problemler oluşturmaktadır. Üreme problemi yanında diğer metabolik komplikasyonların oluşmasına engel olunması İHH hastası bireylerin morbidite ve mortalitesini engellemede etkili olacaktır. Son yıllarda hipotalamo-hipofizer-testiküler aksın gelişimi ve fonksiyonlarında rol oynayan bir dizi gen tanımlanmıştır. Bu genler, bu aksın farklı basamaklarında eksprese olan transkripsiyon faktörlerini, hormonları, reseptörleri ve enzimleri kodlayıp, gelişim için gerekli olan kompleks parakrin ve endokrin etkileşimler sergilemektedirler. Üreme ile ilgili fizyolojik ve patofizyolojik basamakların daha iyi kavranması, genetik danışma, yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi ve bunların bireyselleştirilmesi amacıyla önemlidir. Örneğin, gonadotropinlerin fizyolojik rolünün anlaşılması ile günümüzde tedavi amaçlı yaygın olarak kullanılan rekombinant gonadotropinler üretilmiştir. Bu süreçte rol oynayan diğer faktörlerin keşfedilmesi klinik tecrübe kazanmamız açısından da önemlidir.

İlaç geliştirmek çoğunlukla çok büyük zaman ve emek isteyen, yüksek miktarlarda para harcamayı gerektiren bir faaliyetdir. Pubertenin başlangıcının genetik olarak ortaya konması ile puberteyi manipüle edebilecek ilaç geliştirilebilir.

Son yıllarda yapılan birçok çalışmaya rağmen İHH olgularının genetik temeli hala tam olarak anlaşılamamıştır. KAL1 ve FGFR1 başta olmak üzere GPR54, NELF, TAC3, TACR3, LEP, LEPR, PROK2 ve PROKR2 genleri hastalarda incelenmesine rağmen %60'ı bulan oranda hastada genetik neden bilinmemektedir. Hipotalamus-hipofiz-gonad aksının farklı basamaklarına etki eden yeni genlerin keşfi ile hastalığın tedavisi ve genetik danışmada yenilikler sağlanabilir. Bunun için İHH hastasının değerlendirilmesinde genetik çalışmalar rutin bir değerlendirme olarak yapılmalı ve yeni gen bölgeleri araştırılmalıdır.

Bu çalışmada KISS1 geninin inaktivasyonuna neden olan mutasyon (p.115N->K) araştırıldı. KISS1 geninin mutasyon görülen 3. Ekzon bölgesinde forward ve reverse okumalarda hiçbir hastada nükleotid değişikliği (mutasyon) saptanmadı.

Çalışmamız bu mutasyonun erkek HH hastaları örnekleminde araştırıldığı ilk çalışmadır. 50 vakalılık hasta grubumuzda ülkemizde bir ailenin 4 bayan bireyinde saptanan bu mutasyonu tespit etmedik. Bu mutasyon çok nadir görülen bir mutasyon olabilir veya dişi HH hastalarına spesifik bir mutasyon olabilir. Dişi HH hastalarının örnekleminde çalışılmasının uygun olacağını düşünmekteyiz.

Fonksiyonel amenorede bile GnRH mutasyonlarının çalışıldığı bir dönemde, HH moleküler nedenlerinin ortaya koymayı amaçlayan genetik çalışmaların akraba evliliklerinin sık olduğu toplumumuzda genlerin çeşitlenemediği daha özel hasta gruplarında yapılması daha büyük faydalar getirebilir. Unutulmamalıdır ki en iyi hekimler hastalığı oluşmadan engelleyen hekimlerdir.

Kaynaklar:

- 1- Topaloglu AK, Tello JA, Kotan LD, Ozbek MN, Yilmaz MB, Erdogan S, Gurbuz F, Temiz F, Millar RP, Yuksel B. Inactivating KISS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med*. 2012 Feb 16;366(7):629-35.
- 2- Plant TM. Hypothalamic control of the pituitary-gonadal axis in higher primates: key advances over the last two decades. *J Neuroendocrinol* 2008;20: 719-26.
- 3- Shlomommed L, Kleinberg D. Hypogonadotropic Hypogonadism. In: Larsen R, Kronenberg HM, Melmed S, Williams Text Book of Endocrinology (10nd ed) Saunders, Philadelphia 2003, pp 177-279.
- 4- Jockenhövel F, Male Hypogonadism, First Edition, UNI-MED Verlag AG, Bremen 2004 pp 12-118.
- 5- Burris AS, Rodbard HW, Winters SJ, ve diğerleri. Gonadotropin therapy in men with isolated hypogonadotropic hypogonadism: The response to human chorionic gonadotropin is predicted by initial testicular size. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:1144-9.
- 6- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, ve diğerleri. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1731-1737
- 7- West A, Vojta PJ, Welch DR, Weissman BE. Chromosome localization and genomic structure of the KiSS-1 metastasis suppressor gene (KiSS1). *Genomics* 1998; 54: 145-148.
- 8- Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, Seminara S, Clifton DK, Steiner RA. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2004;145:4073-7.
- 9- Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. From KISS1 to kisspeptins: An historical perspective and suggested nomenclature. *Peptides* 2009;30:4-9
- 10- Kafa İM, Eyigör Ö. Kisspeptinler ve Kisspeptin Nöronları: Üreme Sistemi Üzerine Etkileri ve Hipotalamik Yerleşimleri, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2011-derleme;37 (1) 53-60,
- 11- Messenger, S., Chatzidaki, E.E., Ma, D., et al., Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G proteincoupled receptor 54, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005;102, 1761-1766.
- 12- de Roux, N., Genin, E., Carel, J.C., Matsuda, F., Chaussain, J.L., Milgrom, E., Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100,10972-10976.
- 13- Seminara, S.B., Messenger, S., Chatzidaki, E.E., et al., The GPR54 gene as a regulator of puberty, *N. Engl. J. Med*. 2003;349, 1614-1627.
- 14- Kennedy D, Norman C. What Don't We Know? *Science, Special Issue*. 1 July 2005 Vol.309:5731;75
- 15- Türk Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği'nin (TEMED), Adrenal ve Gonad Hastalıkları Kılavuzu 2014.