

**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SANTRAL PUBERTE PREKOKS TANISI İLE İZLENEN KIZ  
ÇOCUKLARINDA SERUM OBESTATİN VE GHRELİN  
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Fatma Büşra KARA**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır.**

**ANKARA  
2022**



**T.C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SANTRAL PUBERTE PREKOKS TANISI İLE İZLENEN KIZ  
ÇOCUKLARINDA SERUM OBESTATİN VE GHRELİN  
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

**Dr. Fatma Büşra KARA**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ  
Olarak hazırlanmıştır.**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Esin İLERİ GÜREL**

**ANKARA  
2022**

## TEŞEKKÜR

Konu seçiminden tezin tamamlanmasına kadarki tüm bu süreçte; kendisiyle çalışmaktan mutluluk ve gurur duyduğum, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ışığında bana yol gösterip destek veren, iş disiplini her zaman örnek aldığım tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Esin İLERİ GÜREL'e,

Güler yüzü ve anlayışlı tavrıyla bölümümüzdeki huzurlu çalışma ortamını sağlayan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen anabilim başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Ayşen ERDEM'e,

Tıp ve uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle donanım kazanmamı sağlayıp akademik hayatıma katkı sunan Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki tüm değerli hocalarıma,

Tez çalışmama kıymetli yorumlarıyla katkı sağlayan jüri üyeleri sayın hocalarım Prof. Dr. Ahmet ERGÜN ve Doç. Dr. Meltem TUNCER'e,

Tez çalışmamda büyük emek vererek klinikteki sürecin sorunsuz ilerlemesini sağlayan Sayın Doç. Dr. Onur AKIN, Uzm. Dr. Sevinç ODABAŞI GÜNEŞ ve hemşire hanım Canan DEMİRCİ'ye,

Laboratuvar çalışmalarında katkı sağlayan Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Murat KIZILGÜN, Doç. Dr. Çiğdem YÜCEL ve teknisyenler Alev ALPAT YILMAZ ve Yasemin BEŞPARMAK'a,

Çalışma ortamını güzelleştirip akademik katkılarıyla tüm bu süreçte yanımda olan çok sevgili çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Emine İNCE ve Arş. Gör. İpek ACAR CÖMERT başta olmak üzere birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm araştırma görevlisi arkadaşlarım ve idari personelimize,

Sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim, bu günlere gelmem için fedakarlıkları ve emekleriyle beni yalnız bırakmayan canım annem ve babam Ayşe YILMAZ ve Lokman YILMAZ'a,

Varlıklarıyla hayatıma neşe katan, sevgileriyle bana güç veren en değerlilerim canım çocuklarım Yüstra ve Mehmet Selim'e,

Hayatıma girdiği ilk günden itibaren tüm hayatımı güzelleştiren, tıp eğitimi ve uzmanlık eğitimi boyunca akademik başarılarıma destek olan, zorluklarla mücadele etmemi sağlayan, sevgi ve şefkatini her daim hissettiğim değerli eşim, hayat arkadaşım Dr. Hüdaverdi KARA'ya sonsuz teşekkür eder, sevgi ve saygılarımı sunarım.

## ÖZET

**Kara F.B. Santral Puberte Prekoks Tanısıyla İzlenen Kız Çocuklarında Serum Obestatin ve Ghrelin Düzeylerinin İncelenmesi Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Uzmanlık Tezi, Ankara, 2022.** Son yıllarda puberte başlangıç yaşının özellikle kız çocuklarında erkene kaydığı görülmektedir. Her ne kadar obezite bu duruma yol açan faktörlerden biri olarak görülse de puberte prekoks ile obezite arasındaki ilişki net olarak ortaya konamamıştır. Vücuttaki enerji depoları hakkında bilgi veren ve gonadal işlevler üzerine düzenleyici etkileri olan ghrelin ve obestatin hormonlarının bu ilişkide rol oynayıp oynamadığı ise bilinmemektedir. Bu çalışmanın amacı santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum obestatin ve ghrelin düzeylerini belirleyerek puberte prekoks ile obezite arasındaki ilişkiye ışık tutmaktır. Bu amaçla S.B.Ü. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinoloji bölümünde santral puberte prekoks tanısıyla izlenen 5-10 yaşları arasındaki 34 kız çocuğu çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak ise aynı yaş grubunda henüz puberteye girmemiş 34 sağlıklı kız çocuğu seçildi. Deneklerin takvim yaşı, şikayet süresi, aile öyküsü, tanı anındaki antropometrik ölçümleri (boy, kilo), puberte (Tanner) evresi, kemik yaşı, hormon düzeyleri (FSH, LH, E<sub>2</sub>) ile ilişkili verileri dosya kayıtlarından geriye dönük olarak temin edildi. Hasta ve kontrol gruplarında serum obestatin ve ghrelin düzeyleri ELISA ile ölçüldü, daha sonra ghrelin/obestatin oranları hesaplandı. Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ortalamaları bakımından fark yoktu ( $P>0,05$ ). Hasta grubunda beden kütle indeksinin yüksek olduğu, ancak aradaki farkın anlamlı olmadığı saptandı ( $P>0,05$ ). Hasta grubunda serum obestatin düzeyi kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu ( $P=0,003$ ). Serum ghrelin düzeyinin yine hasta grubunda daha yüksek olduğu, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $P>0,05$ ). Serum ghrelin/obestatin oranına bakıldığında da hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ( $P=0,023$ ). Çalışmamızın sonuçları yüksek obestatin düzeyi ve düşük ghrelin/obestatin oranının santral puberte prekoks ile ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar ghrelin ve obestatin düzeyleri ile aralarındaki dengenin puberte sırasında görülen gıda alımı ve enerji depoları ile ilişkili sinyallere katkıda bulunarak puberte prekoks fizyopatolojisinde rol oynayabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Erken puberte, enerji metabolizması, ghrelin, obestatin, obezite

## ABSTRACT

**Kara F.B. Investigation of Serum Obestatin and Ghrelin Levels in Girls Followed Up with Central Precocious Puberty, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Physiology, Ankara, 2022.** It has been observed in recent years that the age of onset of puberty has shifted earlier, particularly in girls. Although obesity is regarded as one of the factors contributing to this situation, the link between prepubertal precocious puberty and obesity has yet to be established. It is unknown whether the hormones ghrelin and obestatin, which provide information about the body's energy stores and have regulatory effects on gonadal functions, play a role in this relationship. The aim of this study is to shed light on the relationship between precocious puberty and obesity by determining serum obestatin and ghrelin levels in girls, followed up with the diagnosis of central puberty precox. For this purpose, thirty-four girls aged 5–10 years who were followed up with the diagnosis of central prepubertal precox in the Pediatric Endocrinology department of S.B.Ü. Gülhane Training and Research Hospital were included in the study. Thirty-four healthy girls of the same age group who had not yet reached puberty were chosen as the control group. Data related to the subjects' chronological age, duration of complaint, family history, anthropometric measurements at the time of diagnosis (height, weight), puberty (Tanner) stage, bone age, and hormone levels (FSH, LH, E<sub>2</sub>) were obtained retrospectively from the file records. Serum obestatin and ghrelin levels were measured by the ELISA in patients and control groups, and then the ghrelin/obestatin ratios were calculated. There was no difference in mean age between the patient and control groups ( $P>0.05$ ). The body mass index was found to be high in the patient group, but the difference was not significant ( $P>0.05$ ). The serum obestatin level was found to be higher in the patient group compared to the control group ( $P=0.003$ ). It was observed that the serum ghrelin level was higher in the patient group, but the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ). When the serum ghrelin/obestatin ratio was analyzed, it was determined that it was lower in the patient group compared to the control group ( $P=0.023$ ). The results of our study reveal that a high obestatin level and a low ghrelin/obestatin ratio are associated with central precocious puberty. These findings indicate that ghrelin and obestatin levels, as well as their balance, may play a role in the physiopathology of precocious puberty by contributing to signals associated with food intake and energy stores during puberty.

**Keywords:** Precocious puberty, energy metabolism, ghrelin, obestatin, obesity

**İÇİNDEKİLER**

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Pubertenin Tanımı	5
2.2. Pubertenin Fizyolojisi ve Nöroendokrin Düzenlenmesi	5
2.3. Pubertedeki Fizyolojik Değişiklikler	9
2.3.1. Puberte Evrelemesi	9
2.3.2. Seksüel Olgunlaşma	10
2.3.3. Büyüme Atağı	11
2.3.4. Vücut Kompozisyonundaki Değişiklikler	12
2.3.5. Pubertedeki Diğer Fizyolojik Değişiklikler	12
2.4. Puberte Yaşını Etkileyen Faktörler	14
2.4.1. Genetik Faktörler	15
2.4.2. Çevresel Faktörler	15
2.4.3. Nutrisyonel ve Metabolik Faktörler	16
2.5. Puberte Prekoks (Erken Puberte)	18
2.5.1. Puberte Prekoks Sınıflandırılması	19
2.5.2. Normal Pubertal Varyasyonlar	20
2.5.3. Santral Puberte Prekoks (SPP)	20
2.5.4. Periferik Puberte Prekoks (PPP)	22
2.6. Ghrelin	23
2.7. Obestatin	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM	29
3.1. Araştırmanın Yeri ve Zamanı	29

3.2 Araştırmanın Örneklemi	29
3.3. Verilerin Toplanması	30
3.4. Verilerin Değerlendirilmesi	34
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
7. KAYNAKLAR	47



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
BKİ	Beden Kütle İndeksi
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DHEAS	Dehidroepiandrosteron sülfat
E2	Östrojen
ELISA	Enzim Bağlı İmmün Assay
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GABA	$\gamma$ -aminobütirik Asit
GH	Büyüme Hormonu
GHS-R	Büyüme Hormonu Sekretagogu reseptörü
GHS-R1a	Büyüme Hormonu Sekretagogu reseptörü tip 1a
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
GOAT	Ghrelin O-Açıltransferaz
GPR39	Protein Bağlı Reseptör 39
H <sub>0</sub>	Sıfır Hipotezi
H <sub>1</sub>	Alternatif Hipotez
hCG	İnsan Koryonik Gonadotropin
HHG	Hipotalamus-Hipofiz-Gonad
HRP	Horseradish Peroksidaz
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IU	Uluslararası Birim
iSPP	İdiyopatik Santral Puberte Prekoks
K	Kontrol Grubu
Kiss1	Kisspeptin 1
Kiss1R	Kisspeptin 1 Reseptörü
KNDy	Kisspeptin/Nörokinin-B/Dynorphin
KY	Kemik Yaşı
LH	Lüteinizan Hormon
LHRH	Lüteinize edici hormonu salgılatıcı hormon

MAS	McCune Albright Sendromu
mIU/l	Mili Uluslararası Birim/litre
MKRN3	Makorin Ring Finger Protein 3
MRG	Manyetik Rezonans Görüntüleme
n	Örneklemdaki Birey Sayısı
NPY/AgRP	Nöropeptid Y/Aguti İlişkili Peptid
ob/ob	Obez Fare Modeli
ort	Ortalama
PC	Prohormon Konvertaz
PKOS	Polikistik Over Sendromu
PPP	Periferik Puberte Prekoks
r	Korelasyon Katsayısı
S.B.Ü.	Sağlık Bakanlığı Üniversitesi
SHBG	Seks Hormon Bağlayıcı Globülin
SPP	Santral Puberte Prekoks
TMB	Tetrametilbenzidin
TY	Takvim Yaşı
USG	Ultrasonografi

## ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Hipotalamus-hipofiz-gonad aksı.....	6
Şekil 2.2. Hipotalamus-hipofiz-gonad aksının aktivitesinde zamana bağlı değişiklikler.....	7
Şekil 2.3. Kızlarda ve erkeklerde pubertal gelişim basamakları.....	10
Şekil 2.4. Kızlarda yaşa göre pubertal gelişim basamakları .....	13
Şekil 2.5. Prader orşidometresi .....	13
Şekil 2.6. Erkeklerde pubertal gelişim evreleri.....	14
Şekil 2.7. Obezite, insülin direnci ve adipokinleri pubertal gelişimin zamanlamasına bağlayan hipotezler.....	18
Şekil 2.8. Erken pubertenin klinik değerlendirilmesi .....	22
Şekil 2.9. Ghrelinin fizyolojik etkileri .....	24
Şekil 2.10. Ghrelin ve obestatinin moleküler yapısı .....	26
Şekil 3.1. Hasta ve kontrol gruplarının antropometrik ölçümleri .....	30
Şekil 3.2. Obestatin düzeyleri için standart eğri grafiği.....	32
Şekil 3.3. Ghrelin düzeyleri için standart eğri grafiği.....	34
Şekil 4.1. Hasta ve kontrol gruplarında ghrelin seviyeleri.....	38
Şekil 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında obestatin seviyeleri .....	39
Şekil 4.3. Hasta ve kontrol gruplarında ghrelin/obestatin oranı .....	39

**TABLolar**

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Puberte prekoks sınıflaması ve olası nedenleri .....	19
<b>Tablo 2.2.</b> Santral puberte prekoks için tanı kriterleri.....	21
<b>Tablo 4.1.</b> Kontrol ve hasta gruplarının yaş, vücut ağırlığı, boy ve BKİ değerlerinin karşılaştırılması .....	35
<b>Tablo 4.2.</b> Kontrol ve hasta gruplarının LH, FSH ve kemik yaşı değerleri yönünden karşılaştırılması .....	36
<b>Tablo 4.3.</b> Kontrol ve hasta gruplarının östrojen seviyeleri ve Tanner (Telarş ve Pubarş) evrelerinin karşılaştırılması .....	37
<b>Tablo 4.4.</b> Hasta grubunda LH düzeyi ile Tanner evresi arasındaki ilişki .....	37
<b>Tablo 4.5.</b> Kontrol ve hasta gruplarının ghrelin ve obestatin düzeyleri ile ghrelin/obestatin oranlarının karşılaştırılması.....	38

## 1. GİRİŞ

Puberte, fiziksel, hormonal ve psikososyal olarak çocukluktan erişkinliğe geçişin gerçekleştiği, cinsel gelişim ile büyümenin tamamlandığı ve üreme kapasitesinin kazanıldığı bir dönemdir. Bu dönemde primer ve sekonder seks karakterleri gelişir ve olgunlaşır. Primer seks karakterlerinin gelişimi gonad ve genital organların gelişimini ve olgunlaşmasını kapsar. Sekonder seks karakterlerinin gelişimi ise meme gelişimi, seksüel kıllanma ve ses değişiklikleri gibi özellikleri içerir (1). Kızlarda meme gelişimi genellikle pubertenin ilk bulgusudur. Pubertede pubik ve aksiller kıllanma hipotalamus-hipofiz-gonad (HHG) aksından bağımsız olarak adrenal androjenlerin artışına (adrenarş) bağlı iken, meme gelişimi over kaynaklı östrojenlerin artışına (gonadarş) bağlıdır. Menarş ise over kaynaklı östrojenlerin daha da artması sonucu olur. Pubertenin erken dönemlerinde östrojen artışı epifizyel büyümeyi uyararak kızlarda hızlı uzamaya neden olur (2, 3).

Puberte bulgularının kızlarda 8, erkeklerde 9 yaşından önce ortaya çıkması puberte prekoks (erken ergenlik) olarak tanımlanır (4). Puberte prekoks, hipotalamus-hipofiz-gonad aksının erken aktivasyonu sonucu ortaya çıkmışsa santral (gerçek/gonadotropin bağımlı) puberte prekoks, HHG aksı aktifleşmeden, gonadlardan veya gonad dışından seks steroidlerinin salgılanması sonucu ortaya çıkmışsa periferik (yalancı/gonadotropin bağımlı olmayan) puberte prekoks olarak adlandırılır (3). Santral puberte prekoks, boyca uzama, somatik yaşla uyumlu ileri kemik yaşı, artan seks steroidi, pulsatil gonadotropin salgısı ve lüteinizan hormonun (LH) gonadotropin salgılatıcı hormona (GnRH) artan yanıtı gibi normal ergenliğin fiziksel ve endokrin tüm özelliklerini içerir ancak çok erken yaşta görülür. Santral puberte prekoks genel olarak kızlarda erkeklere göre 10 kat daha fazla görülmektedir (5).

Özellikle son yıllarda, yeni tanı alan puberte prekokslu hasta sayısında önemli ölçüde artış görülmektedir. Puberte başlangıç yaşı genetik ve etnik özellikler yanında sosyoekonomik faktörler, beslenme durumu, vücut yağ oranı, kronik hastalıklar, coğrafi yerleşim, çevre kirliliği ve çeşitli kimyasallara (endokrin bozucular) maruziyet gibi etkenlerden belirgin şekilde etkilenmektedir (6-8). Çocuklarda kalori alımı ve fiziksel aktivite pubertenin başlangıç yaşını etkilemektedir. Fazla beslenme

ve obezitenin puberteyi tetikleyen önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışma ile obezitenin kızlarda erken puberte ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9-13). Pandemi döneminde erken puberte olgularının artış göstermesi bu dönemde çocukların fiziksel aktivitesinde azalma ve kalori alımında artış ile ilişkilendirilmektedir. Diğer yandan malnütrisyon ve malabsorbsiyon ise pubertede gecikmeye neden olmaktadır (7). Metabolizma ve enerji depoları ile ilişkili bilginin üreme aksını yöneten beyin merkezlerine nasıl iletildiği ise tam olarak bilinmemektedir.

Puberte başlangıcını etkileyen metabolik sinyaller arasında leptin temel bir rol oynamaktadır. Leptin ile puberte arasındaki ilişkiden yola çıkılarak bağırsaklar, pankreas ve yağ dokusundan salgılanan enerji metabolizması ile ilişkili başka peptidlerin de puberte üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür (14-18). Bu peptidler arasında özellikle enerji azlığının bir sinyali ve leptinin işlevsel olarak antagonisti olan ghrelin bulunmaktadır (5). Ghrelin geni 117 aminoasit uzunluğundaki preproghrelini kodlar (19). Preproghrelinin post-translasyonel modifikasyonu sonucu ghrelin ve obestatin hormonları oluşur (20-22). Ghrelin ve obestatin, iştahın kontrolü ve enerji dengesinin düzenlenmesi ile ilişkili iki peptittir (23). Ghrelin ve obestatin aynı proteinden türemiş olsalar da farklı reseptörleri vardır ve zıt fizyolojik etkilere sahip oldukları düşünülmektedir (24).

Ghrelin esas olarak mideden salgılanan enerji dengesi, iştah ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. Güçlü oreksijenik etkisi olduğu, açlık hissini tetiklediği ve besin alımını arttırdığı bilinmektedir (25-27). Dolaşımdaki ghrelin seviyeleri obezite, insülin direnci ve kilo alımı gibi durumlarda düşmektedir (28-30). Ghrelin ayrıca, büyüme hormonu salgısında artışa yol açar ve glukoz homeostazını korur (31). Çalışmalar ghrelinin aynı zamanda üreme işlevinin düzenlenmesinde rol oynadığını göstermektedir (32). Ghrelin gonadotropin salgısını modüle etmekte, ergenlik zamanlamasını etkilemekte ve gonadal (hem testis hem de yumurtalık) işlevleri doğrudan düzenlemektedir (33). Sağlıklı çocuklar ve adolesanlarda yapılan çalışmalar, ghrelin düzeylerinin doğum sonrası erken yaşlarda (yaklaşık 2 yaş civarında) zirveye ulaştığını ve daha sonra çocukluk ve ergenlik döneminde ergenliğin sonuna kadar kademeli olarak azaldığını göstermektedir (32-34).

Obestatin preproghrelinin post-translasyonel işlenmesiyle oluşan bir başka peptittir (22). Obestatin mide mukozasında, duodenum, jejunum, kolon, pankreas, dalak, meme bezleri, anne sütü, testisin Leydig hücreleri, tükürük ve plazmada bulunur (20-22). Obestatin başlangıçta ghrelinin gıda alımı, kilo kontrolü ve gastrointestinal motilitedeki iyi bilinen işlevleriyle ilgili olarak incelenmiştir. Ghrelin gıda alımı, kilo alımı ve mide boşalması üzerindeki uyarıcı etkisi ile bilinirken, obestatinin gıda alımını engellediği, vücut ağırlığını azalttığı ve jejunal motiliteyi baskıladığı gösterilmiştir. Obestatine hem akut hem de kronik maruziyetlerde gıda alımı üzerine baskılayıcı etki ve kilo alımında azalma gözlenmiştir (24).

Ghrelin ve obestatinin ergenlik döneminde büyüme ve gelişmede önemli bir role sahip oldukları düşünülmektedir (35-37). Bu peptidlerin vücut ağırlığının düzenlenmesine katkıda bulunduğu, ergenlik sırasında enerji dengesindeki değişiklikleri yönettiği ve enerji homeostazının bir parçasını oluşturdukları kabul edilmektedir. Yapılan bir çalışmada ghrelin ve obestatin seviyeleri, obez grupta hem yemek öncesi hem de yemek sonrası normal kilolu gruplara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bir diğer çalışmada ghrelin/obestatin oranının obez kişilerde, normal kilolulara göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (30). Bu da bu peptitler arasındaki dengenin obezite ve gıda alımında daha önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bu iki hormonun enerji metabolizması ve gonadal işlevleri düzenleyici etkileri olması nedeniyle puberte prekoks fizyopatolojisinde rolü olabileceği ve ilerde tedavi seçenekleri arasında yer alabileceği düşünülmektedir (23, 38). Ghrelinin enerji dengesi ve puberte üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar literatürde daha fazla bulunmasına rağmen obestatinin enerji metabolizması ve pubertedeki rolüne ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu tez çalışmasında santral puberte prekoks tanısı ile izlenmekte olan kız çocuklarında serum obestatin düzeyi, serum ghrelin düzeyi ve serum ghrelin/obestatin oranı arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçlara yönelik olarak çalışmanın hipotezleri belirlenmiştir:

- H<sub>10</sub>: Santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum ghrelin düzeyleri kontrol grubundan farklı değildir.
- H<sub>11</sub>: Santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum ghrelin düzeyi kontrol grubuna kıyasla düşüktür.

- H2<sub>0</sub>: Santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum obestatin düzeyleri kontrol grubundan farklı değildir.
- H2<sub>1</sub>: Santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum obestatin düzeyi kontrol grubuna kıyasla yüksektir.
- H3<sub>0</sub>: Santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum ghrelin/obestatin oranı kontrol grubundan farklı değildir.
- H3<sub>1</sub>: Santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum ghrelin/obestatin oranı kontrol grubuna kıyasla düşüktür.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Pubertenin Tanımı

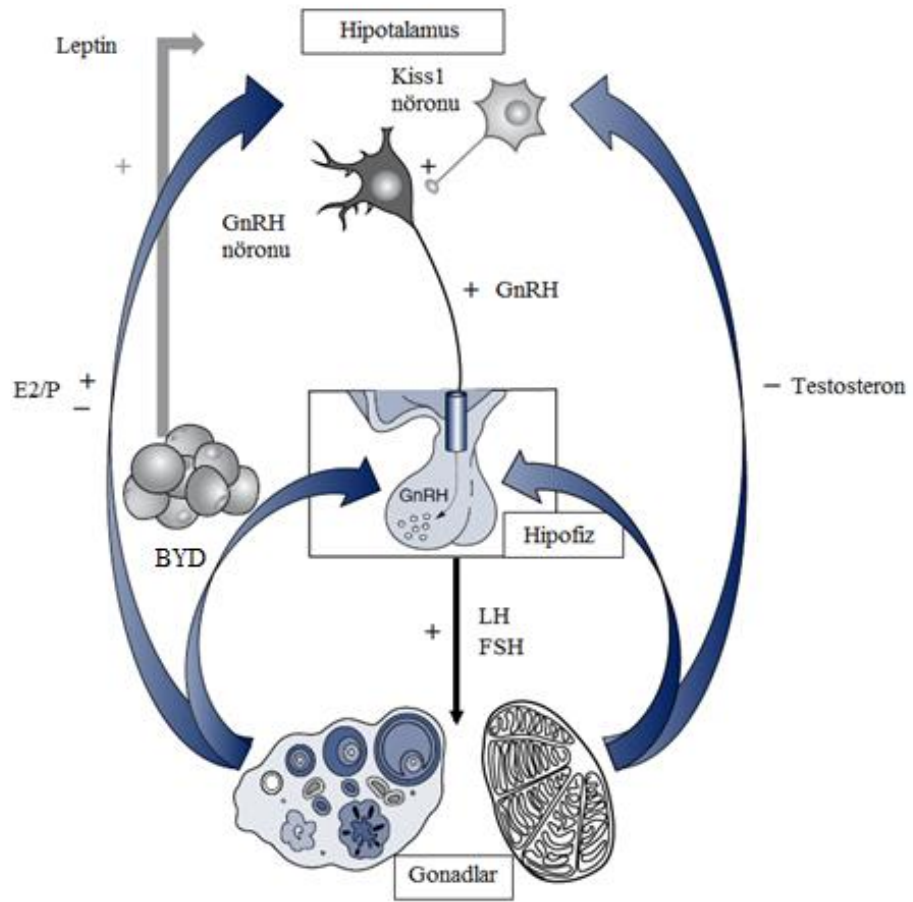
Puberte genetik, çevresel, nütrisyonel ve sosyoekonomik faktörlerden etkilenebilen karmaşık bir cinsel gelişim sürecini ifade eder (39). Pubertede çocukluktan erişkinliğe fiziksel, hormonal ve psikososyal olarak kademeli bir geçiş yaşanır. Bu geçiş süreci gonad ve dış genital yapıların işlevsel olarak gelişimi ile karakterizedir. Bu dönemde gonadların olgunlaşması (erkeklerde testisler, kızlarda overler), seks steroid hormonlarının salgılanması (erkeklerde testosteron, kızlarda östrojen ve progesteron) ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi ile birlikte üreme işlevleri kazanılır (40). Puberte kızlarda sıklıkla meme gelişimiyle, erkeklerde ise testislerin büyümesiyle başlar. Pubertenin normal başlangıç yaşı erkeklerde 9-14 yaş, kızlarda 8-13 yaş arasındadır (1). Pubertal gelişim süreci ortalama 4,5 yıl (1,5-6 yıl) sürmekte ve kızlarda pubertal bulgular erkeklere göre iki yıl daha erken başlamaktadır (41, 42).

### 2.2. Pubertenin Fizyolojisi ve Nöroendokrin Düzenlenmesi

Puberte başlangıcını kontrol eden mekanizmalar çok faktörlüdür. Hormonal, genetik, metabolik ve çevresel birçok faktör başlangıcını etkiler. Puberte başlangıcı için HHG aksının aktivasyonu gerekir (43) (Şekil 2.1). Gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salgısı çocukluk çağında baskılanmış haldedir. GnRH'nın aktivasyonu, luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salgısını uyarır ve bu da gonadal cinsiyet steroidlerinin üretimini aktive eder (44).

FSH, kızlarda overlerde folikül gelişimi ve over granüloza hücrelerinde testosteronun östrojene aromatzasyonunu sağlar. Erkeklerde ise FSH spermatogenezden sorumludur ve testiküler sertoli hücrelerinin reseptörlerini etkileyerek seminifer tübül yapılar ve sperm üretimi üzerine etki eder. LH erkeklerde testislerdeki Leydig hücre zarında kendi reseptörüne bağlanarak cAMP artışı ile testosteron sentezini başlatmaktadır. Kızlarda ise LH over folikül hücrelerindeki zar reseptörüne bağlanarak kolesterolden pregnenolon oluşumunu sağlar. Kolesterolün pregnenolona dönüştürülmesiyle birlikte dehidroepiandrosteron (DHEA) üretimi başlar. Testosteron, testislerde ve prostatta DHEA'dan üretilir. DHEA,

androstenediona dönüşür ve bu molekül androjenlerin ve östrojenin öncüsüdür (45) . Over folikül hücrelerinden östrojen salgısı testosteron sentez basamaklarının tamamlanması ile başlar ve bunu androjenin aromatzasyonu izler. Östrojen ve testosteron etkisi ile gelişen sekonder cinsiyet karakterleri FSH ve LH'nın pubertal seviyelere ulaşmasından yaklaşık altı ay sonra görülmeye başlar (46).

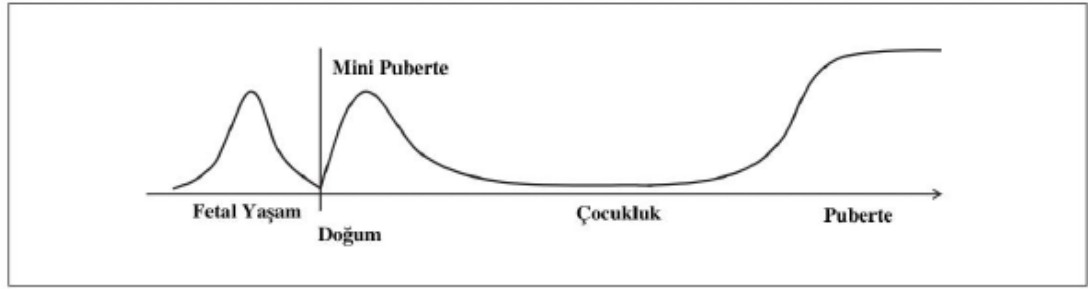


**Şekil 2.1.** Hipotalamus-hipofiz-gonad aksı (47)

GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon, LH: Lütenizan hormon, FSH: Folikül uyarıcı hormon, E2/P: Östrojen/Progesteron, BYD: Beyaz yağ dokusu, Kiss1: Kisspeptin 1

HHG aksı 2. trimesterdeki fetüste aktiftir, ancak doğuma doğru bu aks sessizleşir. Doğumla birlikte HHG aksı yeniden aktive olur ve gonadotropin seviyelerinde artış meydana gelir. Doğumla birlikte gerçekleşen bu duruma 'mini puberte' denir (Şekil 2.2). Doğum sonrası gonadotropin artışı her iki cinsiyette de

gonadal aktivasyona neden olur. Erkeklerde, testosteron seviyeleri 1-3 aylıkken maksimuma ulaşır ve LH seviyesinin düşmesiyle birlikte tekrar düşer. Doğum sonrası HHG aks aktivasyonu, penis ve testis büyümesi ile ilişkilidir ve bu nedenle erkek cinsel organlarının gelişimi için önemli kabul edilir. Kızlarda da gonadotropin seviyeleri yaşamın ilk 3 ayında yüksektir ancak FSH seviyesi 3-4 yaşına kadar yüksek seyretmesine rağmen LH seviyesi 6. aya doğru azalır. Kızlarda doğumdan sonraki gonadotropin artışıyla birlikte yumurtalıklarda foliküllerin olgunlaşması ve östrojen seviyelerinde artış meydana gelir. Yetişkinlikteki durumun aksine, doğumdan sonra ergenliğe kadar olan dönem içinde gonadların çıkarılması, gonadotropin salgısında sadece küçük bir artışa neden olur. Bu nedenle gonadotropin salgısı yalnızca gonadal hormonlar tarafından kontrol altında tutulmaz (48). Mini pubertenin mekanizması tıpkı HHG aksını puberteye kadar susturan mekanizmalarda olduğu gibi tam olarak bilinmemektedir.



**Şekil 2.2.** Hipotalamus-hipofiz-gonad aksının aktivitesinde zamana bağlı değişiklikler (49)

Primer mekanizmanın halen belirsiz olduğu karmaşık nöroendokrin mekanizmalar pubertenin başlangıcına neden olur (2). HHG aksı puberteye kadar sessiz kalır ve puberte döneminde yeniden aktifleşir (49) (Şekil 2.2). Puberte başlangıcını gösteren en önemli bulgulardan biri geceleri meydana gelen LH pikleridir. Başlangıçta sadece geceleri görülen LH pikleri, yavaş yavaş gündüzleri de görülür ve giderek sıklaşır (50). Hipotalamustan salgılanan GnRH, puberte oluşumunda temel rol oynayan hormondur. GnRH nöronlarının salgısı pulsatildir.

HHG aksının kontrolünde rol alan etkenlerden birisi hipotalamik bir peptid olan kisspeptindir. Kisspeptin GnRH salgısı üzerine uyarıcı etki göstererek her iki cinsiyette de üreme işlevi için gerekli olan GnRH pulsatil salgısını modüle eder (51). Aynı zamanda seks steroidlerinin geribildirimine ve metabolik yanıtlara duyarlı bir

nöromodülatördür. Kisspeptin, hipotalamusta üçüncü ventrikülün rostral periventriküler bölgesinde ve arkuat çekirdekte bulunan iki ana nöron grubu tarafından üretilir. Bu nöronlar kisspeptin/nörokinin-B/dinorfin-A (KNDy) nöronları olarak adlandırılmaktadır. Kisspeptin salgısı KNDy nöronları tarafından salgılanan nöropeptidler olan nörokinin B ve dinorfin A tarafından düzenlenir. Nörokinin B kisspeptin salgısını uyarırken, dinorfin A salgıyı baskılar. Nörokinin B ve dinorfin A'nın koordine etkileri sonucunda kisspeptin pulsatil bir şekilde salgılanır. Kisspeptinin pulsatil salgısı da GnRH nöronlarının pulsatil salgısını başlatan sinyaldir (52).

Puberte döneminde arkuat çekirdekdeki kisspeptin 1 (Kiss1) ve kisspeptin 1 reseptörü (Kiss1R) mRNA'sının hipotalamik düzeylerinde ciddi bir artış görülür. Kisspeptin ile uyarılan GnRH salgısı ile birlikte ön hipofizden FSH ve LH salgılanır. Kisspeptin hem LH hem de FSH salgısını uyarır, ancak LH salgısı üzerinde daha etkilidir (53). Rostral periventriküler çekirdekte bulunan KNDy nöronları esas olarak LH salgısını uyarırken arkuat çekirdekte yer alan nöronlar hem FSH hem de LH salgısını uyarır. Kisspeptinin LH salgısını artırıcı etkisi özellikle erkeklerde belirgindir. Kadınlardaki etkisi ise değişkendir ve menstrüel döngünün fazına bağlıdır (54-56).

Puberte döneminden önceki çocukluk döneminde GnRH salgısının düzenlenmesinde bazı nöromodülatörler etkilidir. Bunların bir kısmı uyarıcı etki yaparken bir kısmı inhibe edici etki yapar. Glutamat, hipotalamustaki GnRH salgısını uyarıcı başlıca nörotransmitterdir. Diğer uyarıcı etkiye sahip olan nörotransmitterler ise leptin, nörokinin B, norepinefrin ve dopamindir (43, 57). Makorin ring finger protein 3 (MKRN3) de bu uyarıcı faktörlerden biridir. Kromozom 15q11.2 üzerinde bulunan bir gen olan MKRN3 ekspresyonu puberte öncesi dönemde düşer. Gonadotropin düzeyiyle arasında ters ilişkisinin bulunması MKRN3'ün çocukluk döneminde hipotalamik GnRH salgısında inhibitör etki gösterdiğini düşündürmektedir (58, 59).

Puberte başlangıcını etkileyen bir diğer nörotransmitter olan GABA, tüm beyinde olduğu gibi hipotalamusta da ana inhibitör nörotransmitterdir. GABA'nın puberte başlangıcından önceki juvenil duraklama dönemindeki en önemli etkisi GnRH salgısının inhibe edilmesidir. Puberte, GnRH salgılayan medial bazal

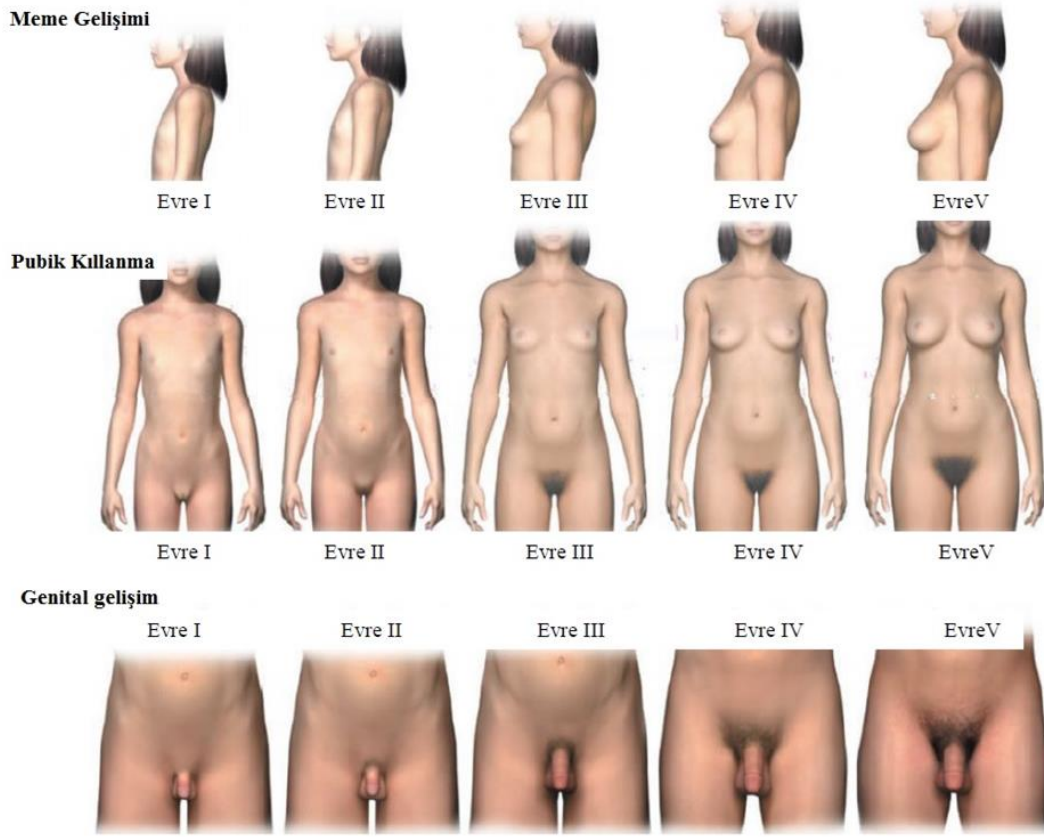
hipotalamik nöronların inhibisyonunun ortadan kalkması sonucu başlar. Puberte başlangıcı ile GnRH salgısının frekansı ve genliği artar. Bu da LH ve FSH salgısını artırır. Sonuç olarak sekonder cinsiyet karakterleri gelişir (60).

## **2.3. Pubertedeki Fizyolojik Değişiklikler**

### **2.3.1. Puberte Evrelemesi**

Kızlar ve erkeklerde puberte gelişimini değerlendirmek için Marshall ve Tanner'ın oluşturduğu evreleme sistemi kullanılmaktadır (61, 62). Bu evreleme kızlarda meme değişiklikleri, erkeklerde genital değişiklikler ve hem kızlarda hem de erkeklerde pubik kıllanma değişikliklerinden oluşan sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişimini içerir. Pubertede pubik ve aksiller kıllanma hipofiz-gonad aksından bağımsız olarak adrenal androjenlerin artışına (adrenarş) bağlı iken; meme gelişimi, over kaynaklı östrojenlerin artışına (gonadarş) bağlıdır. Menarş yani menstruasyon kanamaları ise over kaynaklı östrojenlerin daha da artması ile olur. Pubertenin erken dönemlerinde östrojen artışı epifizyel büyümeyi uyararak kızlarda hızlı uzamaya neden olur. Pubertede görülen pubik kıllanma, meme ve genital bölge gelişimi 5 evrede incelenmektedir: 1. evre ergenlik öncesini ve 5. evre erişkin gelişimini ifade eder (Şekil 2.2).

Kızlarda pubertenin ilk belirtisi telarş olarak adlandırılan meme gelişiminin başlamasıdır (61). Tanner evre 2 meme gelişiminde areola çapı artar ve meme başı hafifçe kabarır. Başlangıçta meme gelişimi asimetric olabilir (41). Meme gelişimi evre III'e ulaştığında glandüler doku belirginleşmiş, kolayca seçilebilir hale gelmiştir. Evre IV'te glandüler doku daha da büyür. Meme dokusu ile areola arasında kontur farkı gelişir. Areola meme dokusu üzerinde ikinci bir tepe yapar. Son evre olan evre V'te meme gelişimi tamamlanır. Areola ve meme dokusu üzerindeki kontur farkı kaybolur. Meme dokusu üzerinden sadece meme ucu yükselir. Meme ucu papilla çapı evre III'e kadar belirgin artış göstermez. Evre IV'te artmaya başlar ve evre V'te yaklaşık 9 mm'ye ulaşır (61) (Şekil 2.3).



**Şekil 2.3.** Kızlarda ve erkeklerde pubertal gelişim basamakları (63)

Telarştan sonra pubarş olarak adlandırılan pubik ve aksiller kılınma, ardından da menarş görülür. Tanner'e göre pubik kılınma gelişim evrelerine bakıldığında, evre II'de labialar boyunca hafif pigmente, zayıf, seyrek kıllar görülür. Evre III'te kıllar koyulaşır, kalınlaşır, kıvrılır ve mons pubise doğru yayılır. Evre IV'te kıllar erişkin tipe yakındır ancak erişkininkinden daha küçük alana yayılmıştır. Evre V'te kıllar erişkin tip ve miktardadır, bacak iç yüzüne doğru ilerler (Şekil 2.3).

### 2.3.2. Seksüel Olgunlaşma

Ergenlik döneminde boy uzaması ve ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesi en önemli değişikliklerdir. Bir diğer önemli nokta vücut görünümündeki değişim ve doğurganlığın kazanılmasıdır. Ergenlik başlangıcının ilk belirtisi kızlarda telarş ve erkeklerde testis büyümesidir. Bazı fizyolojik farklılıklar olmasına rağmen, puberte gelişimi genellikle 3-4 yıl sürer. Menarş, kızlarda ergenliğin son göstergesidir. Geç puberte başlangıcı olan kızlarda telarş ile menarş arasındaki sürede azalma olabilir.

Erkeklerde testis büyümesini, büyüme hızında bir artış ve ardından spermarş (ilk ejakülasyon) takip eder (64).

Pubarş, aksiller ve pubik kıllarının gelişimidir. Her iki cinsiyette de pubarş, adrenarş olarak adlandırılan adrenal androjen üretimindeki artışa bağlıdır. Adrenarş, adrenal zona retikularisin gelişmesiyle birlikte steroid kaynaklı enzimlerin ve kofaktörlerin ekspresyonunun artmasını ifade eder (65). Pubik ve aksiller kıllanma, vücut kokusunun ve aknenin gelişimi gibi ikincil cinsiyet özellikleri gelişir (43). Serumda dehidroepiandrosteron sülfatın (DHEAS) serum konsantrasyonunun artması adrenarş varlığının göstergesidir. Adrenarş adı verilen bu olgunlaşma süreci genellikle 6 yaş civarında, HHG aksının aktivasyonundan birkaç yıl önce başlar (64). Kızlarda 8-10 yaşlarında, erkeklerde 10-12 yaşlarında ortaya çıkar. Tanner evrelerine dahil edilen pubarş, hipofiz-gonadal olgunlaşma veya gonadarştan bağımsız olarak gelişir ve puberte başlangıcının bir belirtisi olarak kullanılmamalıdır (66). İnsanlarda adrenarşın yokluğu doğurganlığı engellemiyor veya gonadarşın zamanlamasını önemli ölçüde etkilemiyor gibi görünmektedir. Gonadarş ise HHG aksının aktivasyonu ile birlikte gonadal seks steroidlerinin salgılanmasıdır (65).

### 2.3.3. Büyüme Atağı

Pubertede hızlı büyüme atağı görülür. Çocukluk döneminde 6 cm/yıl boy uzaması gerçekleşirken, puberteden önce boy uzamasında hafif bir duraklama görülür. Ergenlik başladığında boy hızı artar ve ergenliğin ortalarında zirveye ulaşır. Zirveye ulaşma dönemi kızlarda menarştan, erkeklerde spermarştan hemen önce gelir (67). Bu büyüme atağını cinsel olgunlaşma ile ilişkilendiren mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır.

Büyüme hormonu (GH) ve insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1), uzunlamasına kemik büyümesinin temel düzenleyicileridir. Pubertal büyüme atağı sırasında görülen hızlı büyüme, pulsatil GH salgısındaki ve IGF-1 salgısındaki artışın bir sonucudur. Pubertede GH ve IGF-1 artışı östrojen artışıyla birlikte görülmektedir. Puberte bittiğinde ise GH salgılanması ve plazmadaki IGF-1 düzeyleri düşmektedir (68).

Pubertal büyüme atağı kızlarda daha erken gerçekleşir ve Tanner evre III'te meydana gelir. Kızlarda büyüme döneminde toplam 25 cm boy artışı olur ve 12

yaşında ortalama 9 cm/yıl ile en yüksek boy hızına ulaşırlar (61). Erkekler, Tanner evre IV'te ve kızlardan ortalama 2 yıl sonra 10,3 cm/yıl'lık bir pik değere ulaşırlar ve puberte döneminde yaklaşık 28 cm boy artışı meydana gelir (62). Prepubertal büyümenin erkeklerde daha uzun sürmesi nedeniyle erkekler ve kadınlar arasında ortalama yetişkin boy farkı 13 cm'dir ve boy uzama hızı menarştan sonra azalarak yaklaşık 7 cm olur (69).

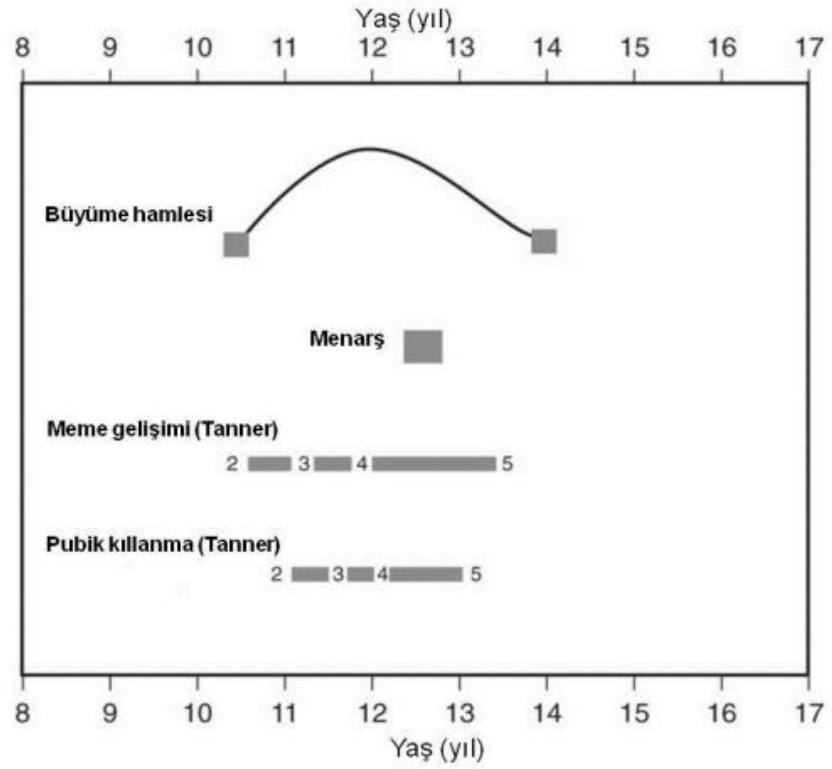
### **2.3.4. Vücut Kompozisyonundaki Değişiklikler**

Pubertenin başlangıcı ve ilerleme hızı, fiziksel değişikliklerin gözlemlenmesiyle belirlenir. Erkeklerde testosteron, testis, penis ve krikoid kıkırdak büyümesi (ses değişikliğine neden olur), sakal gelişimi, kas kütlelerinde artış ve vücut yağ dağılımında değişikliğe yol açar. Erkek çocukların %40'ında geçici pubertal jinekomasti görülebilir. Kızlarda östrojen ise meme gelişimi, labium major ve minörlerin büyümesi, basenlerde yağ oranının artmasını ve vücut yağ dağılımının değişimini sağlar. Aynı zamanda vajinal pH'ın azalması ve mukus akıntısı ile vajinal epitelin östrojenizasyonunu sağlar. Her iki cinsiyette de kasık kıllarının gelişimi adrenarş ile ilişkilidir. Bu değerlendirmeler Tanner sınıflandırmasına göre yapılır (20).

### **2.3.5. Pubertedeki Diğer Fizyolojik Değişiklikler**

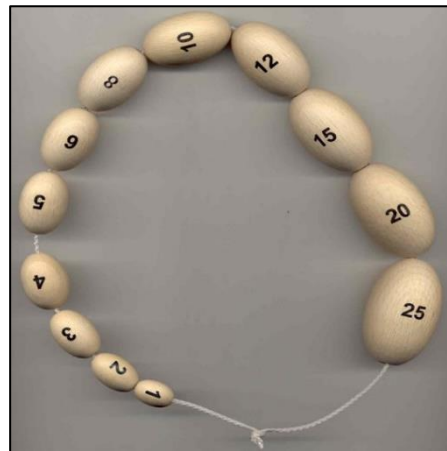
Sağlıklı kızlarda meme gelişimi ve pubik kıllanmanın ortalama başlangıç yaşı sırasıyla  $11,15 \pm 1,1$  ve  $11,69 \pm 1,2$ 'dir (61, 70). Meme gelişimi ortalama 3-4 yıl sürmekte ve genellikle 14 yaş civarında tamamlanmaktadır (41). Kızlarda menstruasyon cinsel olgunlaşmanın en belirgin bulgusudur ve ortalama 12,2-13,3 yaş arasında başlamaktadır (71). Her iki cinsiyette de pubik kıllanma, pubertenin klinik başlangıcından önce, birlikte veya sonrasında başlayabilir (6). Türk toplumu için, puberte başlangıç yaşı kızlarda  $10,1 \pm 1,0$ , pubik kıllanma yaşı  $11,0 \pm 1,0$ , aksiller kıllanma yaşı  $11,6 \pm 1,0$  olarak ve menarş yaşı ortalaması da  $12,2 \pm 0,9$  olarak saptanmıştır (71). Pubertal dönemde cinsiyet hormonlarının etkisinin artması ile birlikte büyüme hızlanmaktadır (72). (Şekil 2.4)





**Şekil 2.4.** Kızlarda yaşa göre pubertal gelişim basamakları (73)

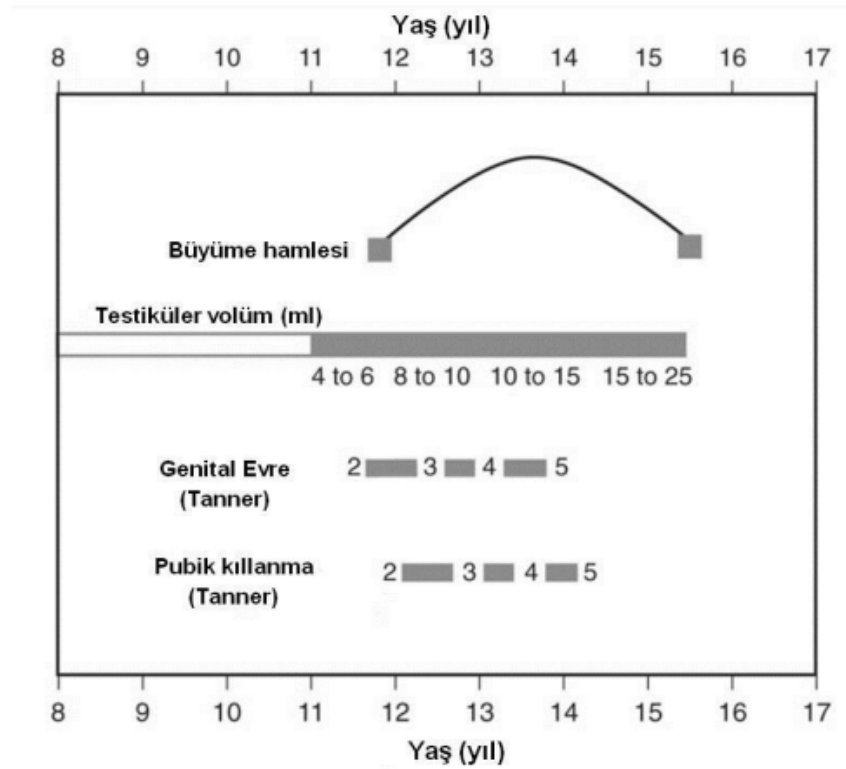
Erkeklerde pubertenin ilk bulgusu testis uzun çapının  $\geq 2,5$  cm ya da testis hacminin  $\geq 4$  ml olmasıdır (62). Pubertenin başlangıç aşamasında testis büyümesi asimetrik olabilir (74). Testis hacmini değerlendirmede en yaygın kullanılan yöntem Prader orşidometresidir (70). Prader orşidometresi 1 ila 25 ml arasında hacime sahip, testis şekli verilmiş boncuklardan oluşan bir skaladır (63) (Şekil 2.5).



**Şekil 2.5.** Prader orşidometresi (63)

Erkeklerde testis hacminde artış 9,5-13,5 yaşlarında (ortalama 12 yaş civarında) başlamaktadır (43). Testis hacmindeki artıştan ortalama 18-24 ay sonra pubik kıllanma, 12-18 ay sonra ise penis boyunda artış gözlenmektedir (63). Aksiller kıllanma pubertenin ortalarında gözlenmekte ve ortalama 3,5 yıl sürmektedir (73).

Türk erkek çocuklarında ortalama puberte başlangıç yaşı  $11,6 \pm 1,2$ , pubik kıllanma yaşı  $12,3 \pm 0,9$ , aksiller kıllanma yaşı  $13,1 \pm 1,0$  iken, puberte süresi  $4,9 \pm 0,6$  yıl olarak saptanmıştır (71). Penis boyu, penisin dorsal kısımdan uzatılarak bir cetvel yardımıyla ölçülmesi ile değerlendirilir. Prepubertal dönemde penisin gergin boyu ortalama 6,2 cm iken erişkinde ortalama 13,2 cm'e ulaşır. Erkeklerde pubertal büyüme atağı 13-15 yaşları arasında, Tanner evre III-V'de gözlenir. Büyüme atağı erkeklerde kızlara göre 2 yıl daha geç olur ve 18 yaşına kadar devam eder (73) (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Erkeklerde pubertal gelişim evreleri (73)

#### 2.4. Puberte Yaşını Etkileyen Faktörler

Pubertenin başlangıç yaşı toplumlar ve demografik gruplar arasında farklılık göstermektedir. Puberte başlangıç yaşı genetik ve etnik özellikler yanında sosyoekonomik faktörler, beslenme durumu, vücut yağ oranı, kronik hastalıklar,

coğrafi yerleşim, çevre kirliliği ve çeşitli kimyasallara (endokrin bozucular) maruziyet gibi etkenlerden belirgin şekilde etkilenmektedir (6). Son yıllarda yapılan çalışmalar puberte başlangıç yaşının önceki nesillere göre erkene kaydığını göstermektedir (75). Bunun en büyük nedeninin fazla kalori alımı ve fiziksel aktivitede azalma olduğu düşünülmektedir. Yapılan birçok çalışma ile obezitenin kızlarda erken puberte ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9-13, 76). Diğer yandan malnütrisyon ve malabsorbsiyon ise pubertede gecikmeye neden olabilmektedir (7). Metabolizma ve enerji depoları ile ilişkili bilginin üreme aksını yöneten merkezleri nasıl etkilediği ise tam olarak bilinmemektedir.

#### **2.4.1. Genetik Faktörler**

Puberte başlangıcının zamanlaması genetik, nütrisyonel, çevresel ve epigenetik faktörler tarafından kontrol edilir (77). Ergenlik gelişiminin %50-75 oranında kalıtsal olduğu tahmin edilmektedir. Başlangıç zamanlamasında özellikle genetik faktörlerin etkisi anneler ve kızlarının menarş yaşı arasındaki güçlü korelasyonla desteklenmektedir (78). İkiz çalışmalarında ise monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere kıyasla menarş da dahil olmak üzere sekonder cinsel özelliklerin gelişim zamanlaması daha uyumlu bulunmuştur (79-81).

Prepubertal dönemde GnRH nöronlarının aktivitesi baskın olarak inhibitör kontrol altındadır ve pubertenin başlaması için bu inhibisyonun ortadan kalkması gerekir. Pubertal süreci başlatmak için uyarıcı sinyallerde artış ile birlikte inhibitör sinyallerde azalma gerekir. Son yapılan çalışmalar hücreler arası uyarıcı/inhibe edici mekanizmanın gen ekspresyonunun bir sonucu olduğunu göstermektedir (82).

#### **2.4.2. Çevresel Faktörler**

Puberte başlangıcını belirleyen ana etken genetik faktörler olsa da beslenme, sosyoekonomik faktörler veya endokrin bozucu kimyasallar gibi çevresel faktörler de etkilidir. Kız ve erkek çocuklarda puberte başlangıcının özellikle son yıllarda daha erken yaşlara çekildiği görülmektedir. Yakın zamanda Danimarka'da yapılan bir çalışma 1998 ve 2017 yılları arasında kızlarda santral puberte prekoks, erken telarş ve erken adrenarşta önemli bir artış olduğunu göstermiştir (50). Yeni yapılan bir çalışma meme gelişimi yaşının dünya genelinde 1977'den 2013'e kadar her on yılda

ortalama yaklaşık 3 ay azaldığını göstermiştir (83). Aynı zamanda idiyopatik santral puberte prekoks insidansında artış olduğu düşünülmektedir. Bu tür değişimler, puberte başlangıcında çevresel faktörlerin rolüne dikkat çekmektedir (84). İnsan ve hayvan çalışmaları endokrin bozucu kimyasallardan özellikle östrojeni taklit edenlerin ergenlik zamanının erkene çekilmesi ile ilişkili önemli faktörler olduğunu göstermektedir (8).

### 2.4.3. Nütrisyonel ve Metabolik Faktörler

Üreme işlevi, türün hayatta kalması için şart olmakla birlikte oldukça fazla enerji tüketimi gerektiren fizyolojik bir süreçtir. Bu nedenle bu aksın olgunlaşması ve işlevi, enerji durumu ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır. Sağlıklı bir puberte gelişimi ve üreme işlevinin gerçekleşebilmesi için enerji (yağ) depolarının eşik değere ulaşması gerekir. Negatif enerji koşulları üreme döngüsünün baskılanmasına neden olabilmektedir. Örneğin, yoğun atletizmle uğraşan genç kızlarda kilo kaybına bağlı menstrüel döngüler kaybolabilmektedir. Aynı şekilde anoreksiya nervozalı kız çocuklarında da menstrüel döngüler görülmemektedir. Vücut ağırlığı ile puberte başlangıcı arasındaki bağlantının kurulmasını yağ hücreleri tarafından salgılanan ve tokluk hissini sağlayan hormon olan leptinin sağladığı ve esas olarak HHG aksında hipotalamik düzeyde uyarıcı bir rolü olduğu düşünülmektedir. Vücutlarında leptin üretemeyen obez ob/ob fareler kısırdır ve doğurganlıkları leptin enjeksiyonları ile geri döner. Leptin tedavisi ise dişi farelerde erken ergenliğe neden olur (48). Yapılan birkaç çalışmada ise leptin konsantrasyonlarının puberte öncesi yükseldiği, ancak daha sonra gonadal hormon salgısının artmasıyla birlikte pubertenin başlangıcında azaldığı gösterilmiştir (85).

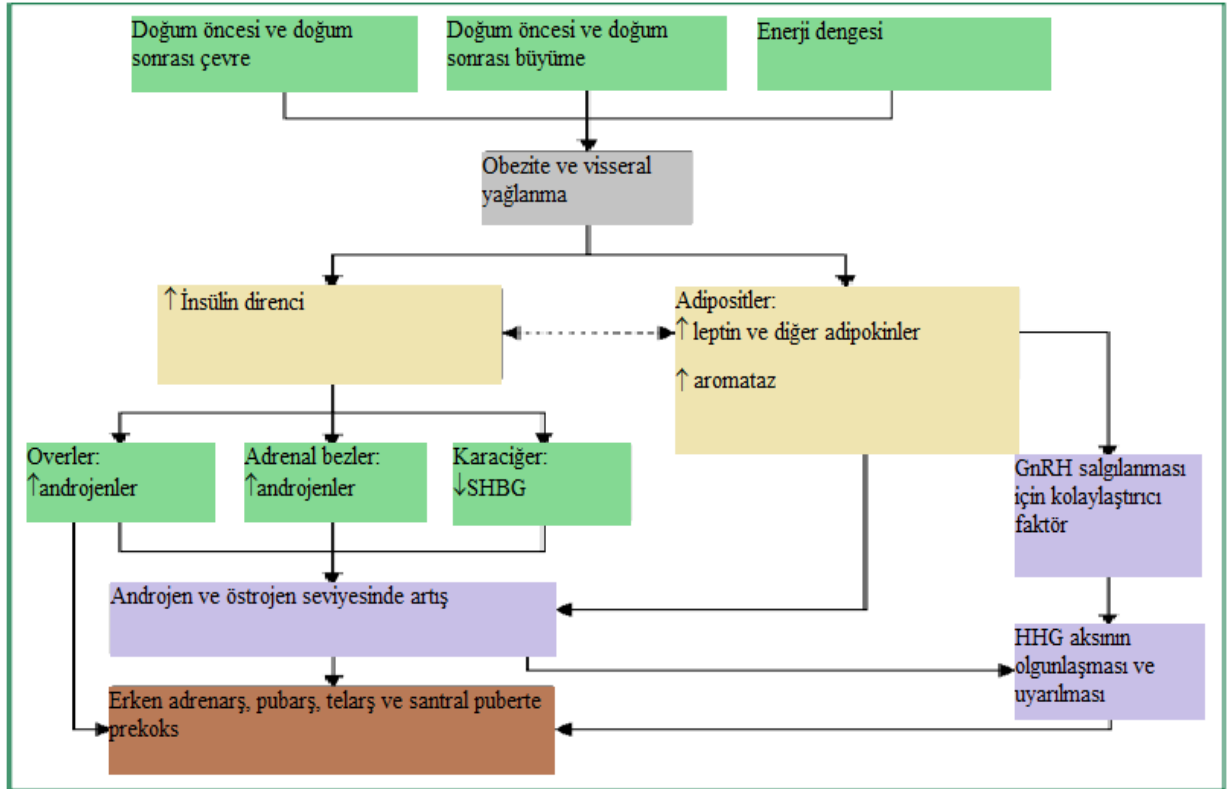
Kisspeptin de enerji depolarını algılayıp GnRH'nin pulsatil salgısına etki ederek beslenme/metabolik durum ve üreme döngüsü arasında bir bağlantı sağlama ihtimali olan bir diğer peptittir. Yapılan bir çalışmada puberte döneminde aç bırakılan fare, sıçan ve maymunlarda Kiss1 mRNA ekspresyonu ve gonadotropin salgısının azaldığı görülmüştür (51).

Çok sayıda kesitsel çalışma obezite ile kızlarda erken puberte başlangıcı arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (12, 86, 87) Kızlarda obezite ve erken ergenlik başlangıcı arasındaki ilişki, kızlar belirli bir ağırlığa ulaştığında menarşın

gerçekleştiğini öne süren Frisch hipoteziyle ortaya çıkmıştır (88). Obezitenin LH salgısı üzerindeki etkisi leptin ile ilişkili de olabilir. Leptin, besin alımı ve enerji dengesini kontrol eden, çevresel ve merkezi reseptörler aracılığıyla çeşitli işlevleri yerine getiren sinyallerden biridir. Son çalışmalar, leptin dahil olmak üzere ekzojen adipokinlerin, hipotalamusta leptin reseptörlerine bağlanarak GnRH pulsatil salgısında değişikliklere neden olduğunu ortaya koymuştur (58). Erkeklerde puberte başlangıcından önce leptin düzeyi yükselir, ancak pubertenin ortalarında düşer. Kızlarda leptin düzeyi ile gonadotropin pik değeri ilişkilidir fakat erkeklerde ilişkili değildir. Ayrıca testosteron, östrojenin aksine adipositlerden leptin salgılanmasını engeller (59).

Yağ dokusu, adipokin salgılaması nedeniyle aynı zamanda endokrin organ görevi görür. Yağ dokusundan salgılanan proinflamatuvar adipokinler insülin direncine katkıda bulunur (87). Obezite de insülin direnci ve merkezi sinir sisteminde leptin sinyalinin bozulması ile ortaya çıkan bir hastalıktır. Özellikle bir adipokin olan leptin, hipotalamus-hipofiz aksının düzenlenmesinde rol oynar. Leptinin enerji depoları ve HHG aksı arasındaki bağlantı sinyali olduğu düşünülmektedir (87, 89). Leptinin GnRH salgısı üzerindeki uyarıcı etkisinin bir nöropeptid olan kisspeptinin GnRH salgısı üzerindeki etkisi aracılığıyla olduğu gösterilmiştir (63). Beden kütle indeksi (BKİ) yüksek olan kızların menarş başlangıç yaşının daha küçük olduğu ve BKİ ile meme gelişimi ve pubik kıllanma gibi diğer puberte başlangıç belirteçleri arasında bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (90). Bununla birlikte bu ilişkinin çift yönlü olması ve ergenliğin kilo alımına yol açması da olasıdır. Ergenlikle beraber artan östrojen vücut yağında artışa, testosteron ise kas kütlelerinde artışa yol açmakta ve her iki cinsiyette de vücut ağırlığında artış görülmektedir (91).

Erken puberte metabolizmayla ilişkisi ortaya konması gereken bir hastalıktır. Özellikle obezite ile ilişkisini araştıran çalışmalar, obezitenin kadınlarda hormon düzeylerini etkilediğini göstermiştir [54]. Kızlarda vücut yağ oranı ile erken puberte arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmiştir [55]. Erken puberteye giren kızlarda östrojen ve androjen salgısının artışı vücutta yağ birikimine yol açar. Yağ dokusundaki artış seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) sentezini azaltabilir ve leptin salgısını etkileyebilir. Leptin de hipotalamusta GnRH pulsatil salgısını değiştirerek LH ve FSH düzeylerinde artışa yol açar (92, 93).



**Şekil 2.7.** Obezite, insülin direnci ve adipokinleri pubertal gelişimin zamanlamasına bağlayan hipotezler (66)

SHBG: Seks hormon bağlayıcı globülin, GnRH: Gonadotropin serbestleştirici hormon, HHG: Hipotalamus-Hipofiz-Gonad aksı

## 2.5. Puberte Prekoks (Erken Puberte)

Erken puberte kızlarda 8 yaşından önce meme gelişiminin başlaması (> Evre II) veya 10,5 yaşından önce menarş gözlenmesi, erkeklerde ise 9 yaşından önce testis hacminin 4 ml üzerine çıkması olarak tanımlanır (1, 70). Puberte başlangıç yaşının uzun vadede önemli biyolojik ve psikososyal etkileri vardır. Kızlarda erken menarş, yetişkin boyunun kısa olmasına ve olumsuz psikososyal etkilere yol açmaktadır. Erken yaşta menarş, obezite, hipertansiyon, tip 2 diyabet, iskemik kalp hastalığı, inme, östrojene bağlı kanserler (meme kanseri vb.) ve kardiyovasküler mortalite riskleri ile ilişkilendirilmiştir (94-96). Bu risklerin çoğunluğu erken yaşta yüksek östrojen maruziyeti ile ilgilidir. Bazı çalışmalar, erken puberteye giren çocukların puberte zamanlaması normal olan çocuklarla karşılaştırıldığında yetişkinlikte cinsel suça yönelik davranışlarının arttığını ve daha fazla psikolojik rahatsızlık riskine sahip olduğunu göstermektedir (97).

### 2.5.1. Puberte Prekoks Sınıflandırılması

Puberte prekoks normal pubertal gelişimin varyantları (prematür pubarş, prematür telarş, prematür menarş), santral puberte prekoks ve periferik puberte prekoks olarak 3 grupta incelenmektedir. Normal pubertal gelişimin varyantları hormonal bir etiyojiye bağlı olan veya olmayan izole telarş, pubarş veya menarş ifade etmektedir. Santral puberte prekoks (gonadotropin bağımlı erken puberte veya gerçek erken puberte) HHG aksının erken olgunlaşması ile ortaya çıkmaktadır. Periferik puberte prekoks (gonadotropinden bağımsız erken puberte veya yalancı erken puberte) ise sıklıkla tümör kaynaklı olarak gonadal seks hormonlarının veya adrenal hormonların aşırı salgılanmasına bağlı olarak oluşmaktadır (98). Puberte prekoks sınıflaması ve olası nedenleri Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Puberte prekoks sınıflaması ve olası nedenleri (73)

Puberte Sınıflandırması	prekoks Nedenler
<b>Normal Pubertal Varyasyonlar</b>	
Prematür telarş Prematür pubarş Prematür izole menarş	
<b>Santral (GnRH bağımlı) Puberte Prekoks (SPP)</b>	
İdiyopatik gerçek erken puberte	Sporadik veya ailesel
Santral sinir sistemi tümörlerine ikincil	Optik gliom, astrositom, kraniofaringiom, ependimom, gliom, medulloblastom, LH salgılayan adenom, pinealoma
Santral sinir sistemi bozukluklarına ikincil	Hipotalamik hamartom, konjenital anomaliler (araknoid veya suprasellar kist, hidrosefali, meningomyelose, septo-optik displazi, boş sella sendromu)
Adrenal ve gonad kaynaklı cinsiyet steroidlerine uzun süreli maruziyet	Konjenital adrenal hiperplazi, McCune Albright sendromu, ailesel testotoksikozis (LH reseptörünün aktive edici mutasyonu)
Geriye dönüşümlü	Bası (apse, hidrosefali)
<b>Periferik (GnRH’dan bağımsız) Puberte Prekoks (PPP)</b>	
Tümörlere ikincil	Gonadotropin salgılayan tümörler, adrenal seks steroidi salgılayan tümörler, over tümörleri, testiküler tümörler, konjenital adrenal hiperplazi (erkek), McCune allbright sendromu
Geriye dönüşümlü	Kronik primer hipotiroidizm, ekzojen seks steroidi alımı, over kistleri

### 2.5.2. Normal Pubertal Varyasyonlar

Prematür adrenarş, adrenal bezden salınan androjenlerin dolaşımında konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak meydana gelen pubik veya aksiller kıllanma ile karakterizedir. Prematür adrenarşta ileri kemik yaşı (KY) görülebilir, ancak meme gelişimi görülmez. Bu nedenle, kasık veya koltuk altı kılları olan ve meme gelişimi olmayan kızlar ile testis büyümesi olmayan erkeklerde prematür adrenarş veya periferik puberte prekoks düşünülmelidir (99). HHG aksının santral aktivasyonu yoktur. Prematür adrenarş görülen kızların bir kısmında insülin direnci olduğu ve artmış insülin düzeylerinin adrenal androjen üretiminde yer alan adrenal enzimleri uyardığı düşünülmektedir. Artmış vücut yağ oranı erken pubik kıllanma için risk faktörüdür (100).

Prematür telarş, büyüme atağı, meme gelişiminin hızlı ilerlemesi veya ileri kemik gelişimi gibi diğer pubertal bulgular olmaksızın meme dokusunun izole gelişimi olarak tanımlanır (101). 8 yaşından önce genellikle 2-3 yaşlarında görülür, kendini sınırlar ve nedeni tam olarak bilinmemektedir (70). GnRH uyarı testine FSH baskın yanıt alınmaktadır (102). Kızlarda telarşın erken yaşta meydana gelmesi GnRH aktivasyonundan kaynaklanmayabilir. Endokrin bozucular ve beslenme gibi diğer etkenler telarş yaşının küçük olmasına neden olabilir (103).

Diğer puberte belirtileri olmadan izole prepubertal vajinal kanamaya prematür menarş denir. Genellikle iyi huyludur ve kendini sınırlandırır. Hormonal etkiye bağlı olup olmadığı ayırt edilmelidir. Prepubertal vajinal kanama santral puberte prekoksun genellikle ilk belirtisi değildir (98). Bu hastaların çoğunluğunda pubertal gelişim normaldir. Beklenmeyen vajinal kanamanın ayırıcı tanısı over kistleri, enfeksiyonları ve tümörleri, yabancı cisim, cinsel istismar, McCune Albright sendromu ve erken puberte olabilir. Prematür menarş bir dışlama tanısıdır. Vajinal kanamalar durana kadar takip edilmelidir (104)

### 2.5.3. Santral Puberte Prekoks (SPP)

Santral puberte prekoks, HHG askının erken aktivasyonundan kaynaklanır (39). Her iki cinsiyette büyüme ve kemik olgunlaşmasının hızlanmasıyla birlikte erkeklerde virilizasyon ve kızlarda feminizasyon görülür (105). Erken puberte kızlarda erkeklere göre yaklaşık 15 kat daha sık rastlanır (106). Santral puberte



prekoks ile ayırt edilmesi gereken en yaygın puberte bozuklukları prematür telarş veya prematür adrenarş gibi varyantlardır.

8 yaşından önce meme gelişimi (Tanner Evre  $\geq 2$ ) ile birlikte, bazal serum östrojen (E2) düzeyi  $\geq 10$  pg/ml, kemik yaşı/takvim yaşı  $>1$  ve GnRH testinde LH tepe düzeyi  $\geq 5$  IU/l, hipofiz MRG normal olması idiyoPATİK SPP (iSPP) tanısı koydurur (107). İzole meme gelişimi olan, GnRH testinde LH tepe değeri  $<5$  IU/l olan, kemik yaşı  $\leq$  takvim yaşı ve en az bir yıllık klinik izlem sonunda puberte bulgularında ve kemik yaşında ilerleme saptanmayan olgular prematür telarş olarak kabul edilir (108).

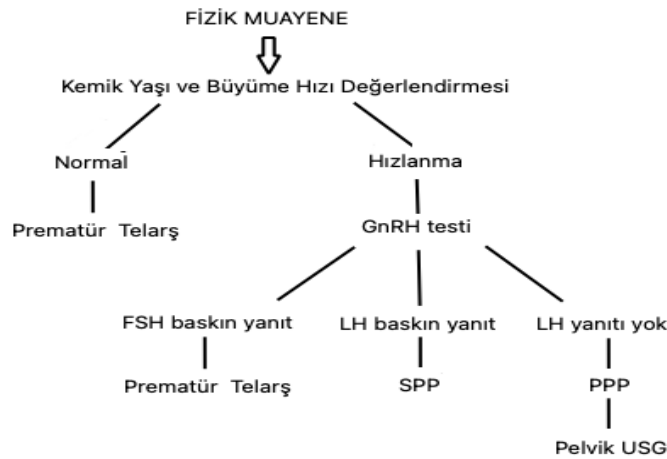
HHG aksının aktivasyonun gösterilmesinde kullanılan altın standart tanı yöntemi GnRH ya da GnRH analogu kullanılarak uygulanan uyarı testleridir (109). GnRH uyarı testi luteinize edici hormonu salgılatıcı hormonun (LHRH) intravenöz olarak  $100 \text{ mcg/m}^2$  dozunda verilmesi sonrası 0. 20. ve 40. dakikalarda FSH, LH ve östrojen ölçülmesi ile yapılmaktadır. GnRH uyarı testinin LH tepe değeri erken puberteli kızlarda yüksek tanısal değere sahiptir ve BKİ, santral erken puberteli kız çocuklarında LH tepe değeri ile ters ilişkilidir. Bu nedenle santral erken puberteli obez kızların tanısında BKİ'yi etkileyen faktörler göz önünde bulundurulmalıdır (110).

**Tablo 2.2.** Santral puberte prekoks için tanı kriterleri (73)

<b>SPP Tanı Kriterleri</b>	
Klinik	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kızlarda 8, erkeklerde 9 yaşından önce ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişimi</li> <li>• Kızlarda meme gelişiminin Tanner'e göre <math>\geq</math> Evre 2 ve uterus uzun çapının artmış (<math>\geq 3,6</math> cm) olması</li> <li>• Erkeklerde testis hacminin <math>\geq 4</math> ml olması</li> <li>• Kemik yaşının takvim yaşına göre <math>&gt;2</math> standart sapma ileri olması</li> <li>• Bazal ve uyarılmış LH düzeylerinin yüksek saptanması</li> <li>• Pelvik ultrasonografide over ve uterus hacimlerinin pubertal boyutlarda olması</li> <li>• İlave bulguların eşlik ediyor olması (menstruasyon, vajinal akıntı, akne, yağlı cilt, erkeklerde noktürnal ereksiyon)</li> </ul>
Biyokimyasal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bazal ve uyarılmış LH düzeyinin yüksek saptanması</li> </ul>

### 2.5.4. Periferik Puberte Prekoks (PPP)

Endojen veya eksojen kaynaklardan seks steroidlerinin üretilmesiyle oluşan ve GnRH salgısından bağımsız ikincil cinsiyet özelliklerinin erken gelişimidir. Santral erken puberte gibi HHG aksının erken aktivasyonundan değil, yüksek östrojen veya androjen salgısından kaynaklanır. Santral erken puberteye göre daha nadir görülmektedir. Over, testis, böbrek üstü bezi patolojileri, insan koryonik gonadotropini salgılayan tümörler, McCune Albright sendromu başlıca nedenler arasındadır. FSH ve LH değerleri puberte öncesi dönemdeki gibidir. Santral puberte prekoksun farklı olarak GnRH uyarı testiyle bu değerler artmaz. İzoseksüel ve heteroseksüel olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Aşırı steroid hormonunun çocuğun fenotipini değiştirmesine bağlı olarak isimlendirilir (111). Erken gelişen sekonder cinsel özellikler genetik cinsiyetle aynıysa izoseksüel, değilse heteroseksüel erken puberte olarak değerlendirilir. Kızlarda izoseksüel formunda meme gelişimi ön plandayken pubik kıllanma daha sonra görülür. Kızlarda heteroseksüel PPP'nin başlıca bulguları akne gelişimi, kliteromegali, ses kalınlaşması ve androjen duyarlı bölgelerde kıllanmadır. Erkeklerde izoseksüel PPP'de ter kokusu, akne oluşumu, pubik kıllanma, sık ereksiyon, gece boşalmaları görülmektedir (112). Santral ve periferik puberte prekoksun ayırıcı tanısı fizik muayene, kemik yaşı değerlendirmesi, GnRH uyarı testi ve pelvik USG ile yapılmaktadır (Şekil 2.8).



**Şekil 2.8.** Erken pubertenin klinik değerlendirilmesi (111)

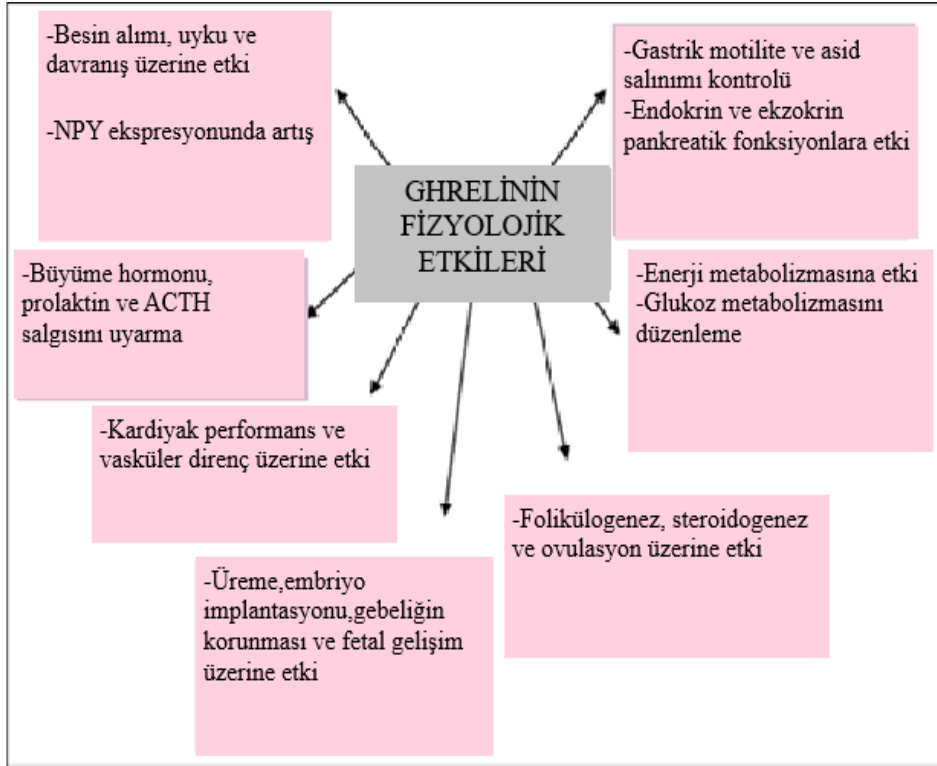
SPP: Santral puberte prekoks, PPP: Periferik puberte prekoks, GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon, LH: Lüteinizan hormon, USG: Ultrasonografi

## 2.6. Ghrelin

Besin alımı ve tokluğa aracılık eden bağırsak-beyin aksında görevli peptitler yağ dokusunun miktarını düzenler. Ağırlıklı olarak mide tarafından üretilen ghrelin de bu peptitlerden birisidir. Ghrelinin, GH salgısını uyarmasına ek olarak gıda alımını arttırdığı, enerji harcanmasını azalttığı ve yağ dokusunu koruyarak kilo alımına neden olduğu bilinmektedir (25).

Ghrelin, 28 aminoasit içeren peptid yapıda bir hormondur. Ghrelin hormonunun esas kaynağı mide fundusundaki nöroendokrin hücrelerdir. Dolaşımdaki ghrelin midenin oksintik bezlerindeki spesifik hücreler tarafından üretilir; insanlarda gastrik fundus mukozasında X/A benzeri hücreler dolaşımdaki ghrelinin %65-90'ını sentezler (113-115). Ghrelin geni insanda, 3p25-26 kromozomu üzerindedir. İnsan ghrelin mRNA'sı, 117 aminoasit uzunluğundaki preproghrelini kodlar. Preproghrelin, ghrelin ve obestatin için ortak öncül moleküldür. Ghrelin, de-açıl ghrelin ve obestatin, preproghrelinin translasyon sonrası işlenmesiyle elde edilen gastrointestinal hormonlardır (38). Preproghrelinin midede prohormon konvertaz (PC) tarafından işlenmesi sonucu ghrelin ve obestatin üretilir. Ghrelin daha sonra, ghrelin-O-açıl-transferaz (GOAT) enzimi tarafından sekiz karbonlu bir yağ asidi ile post-translasyonel olarak modifiye olur ve peptidin aktif formu olan açıl-ghrelin elde edilir (116). Total ghrelinin (açıl + de-açıl ghrelin) dolaşımdaki yarılanma ömrü yaklaşık 35 dakikadır (117). Ghrelin, kanda lipoproteinlere bağlı olarak taşınır ve glomerüllerden süzülür (118, 119).

Ghrelin, büyüme hormonu sekretagog reseptörü (GHS-R) için endojen ligand olarak görev yapar ve GH salgısını uyarır. Diğer yandan ghrelin, gıda alımını ve adipogenezi artırır ve yağların enerji kaynağı olarak kullanımını azaltır (113). Ghrelin ayrıca gastrointestinal sistemden salınan tek oreksijenik peptittir ve enerji homeostazının uzun vadeli düzenleyicisidir. Ghrelinin oreksijenik etkisini hipotalamik arkuat çekirdek nöropeptid Y/aguti ilişkili peptid (NPY/AgRP) nöronları üzerinde gösterdiği düşünülmektedir (120). Ghrelinin besin alımının düzenlenmesi, vücut ağırlığı, glukoz metabolizması ve insülin salgısı gibi pek çok fizyolojik süreçte rol oynadığı bilinmektedir (Şekil 2.9). Ghrelin düzeyi obez kişilerde azalırken anoreksiya nervozalı hastalarda yükselmektedir (28).



**Şekil 2.9.** Ghrelinin fizyolojik etkileri (121).

NPY: Nöropeptid Y, ACTH: Adrenokortikotropik hormon

Çoğunlukla mide kaynaklı olan dolaşımdaki Ghrelin seviyeleri, BKİ ile negatif ilişkilidir. Ghrelinin enerji fazlalığının sinyali olan leptin ile etkileşimi sonucunda üreme döngüsünde etkili olduğu düşünülmektedir (122, 123) Leptinin enerji durumu ve üreme döngüsü arasındaki rolü bilinmesine rağmen, Ghrelinin HHG aksı üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir.

Ghrelin vücuttaki enerji yetersizliğinin sinyali olarak görev almaktadır. Metabolik stres ve negatif enerji dengesi koşullarına oldukça duyarlı bir peptid olduğundan, puberte başlangıcının kontrolünde de rol oynadığı düşünülmektedir (124). Özellikle kadın üreme sisteminin işlevlerinin düzenlenmesinde rol aldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Ghrelin reseptörü olan GHSR tip 1a'nın (GHS-R1a) HHG aksında eksprese edildiği bilinmektedir (125). Otokrin ve/veya parakrin etkilere sahip olan Ghrelin, hipotalamus, hipofiz ve overlerde lokal olarak da sentezlenmektedir. Ghrelinin gonadotropin salgısı üzerinde inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir. Ghrelin steroid hormon salgısı, hücre çoğalması ve apoptoz gibi

overlerin farklı işlevlerinin düzenlenmesine de katkıda bulunur. Ghrelinin hipotalamusun farklı alanlarında Kiss1 gen ekspresyonunu baskıladığı da gösterilmiştir (126). Bu yol, ghrelinin puberte başlangıcı ve gonadotropin salgısı üzerindeki inhibitör etkisini açıklayabilir. Merkezi hipotalamik etkilerine ek olarak ghrelin, doğrudan hipofiz düzeyinde gonadotropin salgısını modüle edebilmektedir (126). Sistemik veya intraserebral uygulamadan sonra ghrelinin, daha çok LH olmak üzere LH ve FSH salgısını inhibe ettiği gösterilmiştir (123). Aynı şekilde ghrelinin dişi sıçanlarda santral olarak uygulanması östrojen ve progesteronda ciddi bir azalmaya neden olmaktadır (127).

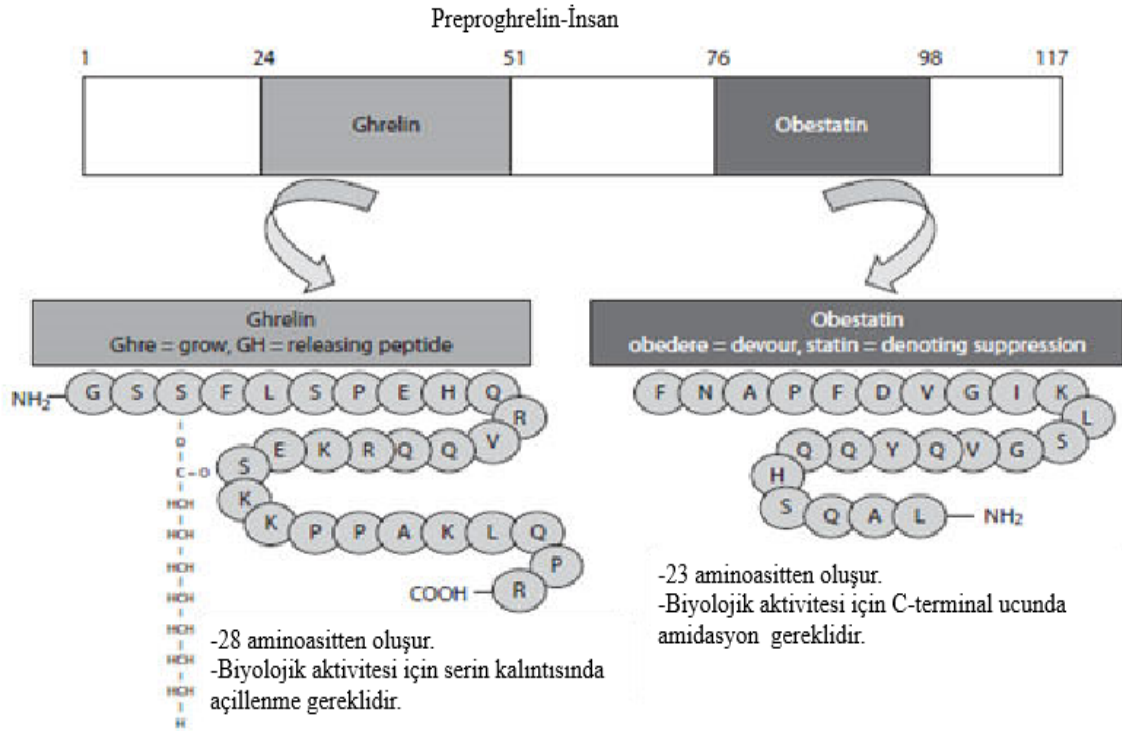
Ergenlik döneminde besin alımında, yemek yeme isteğinde ve vücut ağırlığında bir artış meydana gelmektedir. Fakat açlık hormonu olarak bilinen ghrelinin plazma düzeylerinin doğum sonrası 2 yaş civarında zirve yaptığı ve daha sonra çocukluk ve ergenlik döneminde kademeli olarak azaldığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (32, 36). Bu dönemde ghrelinin oreksijenik özelliklerine karşı plazma seviyelerindeki azalma olması duyarlılığın artmış olabileceğini düşündürmektedir (36). Santral puberte prekoks hastalarıyla prematür telarş ve kontrol grubunun serum ghrelin düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada puberte prekoks hastalarında serum ghrelin düzeyi anlamlı derecede düşük bulunmuştur (30).

Ghrelin plazma düzeylerinin erkek çocuklara göre kız çocuklarında daha yüksek olduğu da gösterilmiştir (128). Açlık total ghrelin plazma seviyesi normal kilolu çocuklarla karşılaştırıldığında obez çocuklarda daha yüksektir (23). Bir çalışmada da ghrelin/obestatin oranının obez çocuklarda normal kilolu çocuklara göre daha düşük olduğu bulunmuştur (129).

## 2.7. Obestatin

Obestatin, 2005 yılında 117 amino asitlik preproghrelin öncüsünün C-terminal ucundan sentezlenen 23 amino asitli obestatin isimli bir peptit olarak tanımlanmıştır (Şekil 2.10). Obestatin 'obez' ve 'statin' (baskılama) kelimelerinin birleşiminden meydana gelmektedir. Ghrelin ve obestatin aynı proteinden sentezlenmelerine rağmen farklı reseptörlere sahiptirler. Preproghrelin, ghrelin ve obestatinin ortak öncül molekülüdür. Ghrelin ve obestatin, preproghrelinin translasyon sonrası işlenmesiyle elde edilen gastrointestinal hormonlardır (38).

Proghrelin ve obestatin için translasyon sonrası sürecin farklı olup olmadığı henüz bilinmemektedir (130). Yapılan bir çalışmada serumdaki total ghrelinin obestatininden yaklaşık 10 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (131). Bu da ghrelinin düzeyi ile obestatin düzeyinin paralel olmadığını göstermektedir. Bu peptitler aynı propeptidten sentezlendiği halde kanda eşmolar düzeyde olmamaları ilginçtir (132).



**Şekil 2.10.** Ghrelin ve obestatinin moleküler yapısı (23)

Obestatinin ghrelinin etkilerine zıt etki gösterdiği, iştah ve kilo alımını azalttığı, gastrointestinal motiliteyi inhibe ettiği daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (22). Aynı zamanda obestatinin, ghrelinin gastrointestinal işlev ve enerji homeostazı üzerindeki etkilerini antagonize ettiği düşünülmektedir (22). Benzer bazı çalışmalar ise obestatinin gıda alımı ve vücut ağırlığının düzenlenmesinde rolü olduğuna dair bulguları tekrarlayamamıştır (133-135). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada obestatin, intraserebroventriküler uygulamadan sonra merkezi bir etki ile anorektik etki göstermiştir (22). Obestatinin gıda alımını modüle etmede kullandığı mekanizmalar ise henüz bilinmemektedir.

Obestatin, pulsatil bir şekilde salgılanır, ghrelin ve büyüme hormonu salgılanmasına benzer şekilde ultradian bir ritim gösterir (136). Kemirgenlerde yapılan bir çalışma obestatinin hem gıda alımı hem de gastrointestinal aktiviteyi inhibe ederken açlık sonrası düştüğünü göstermiştir, ancak gıda alımını hangi mekanizma ile düzenlediği bilinmemektedir. Obestatin N. vagus aracılığıyla jejunal motilitenin azalmasına yol açarak merkezi tokluk sinyali oluşturmaktadır. Obestatin reseptörünün jejunum, duodenum, mide ve yağ dokusunda eksprese edilen ghrelin reseptör alt ailesinden GPR39 olduğu düşünülmektedir (137). Bu bulgu da yine obestatinin enerji homeostazında bir rolü olduğunu düşündürmektedir.

Obestatin düzeylerinin yaştan bağımsız olduğu düşünülmektedir (138). Obestatin düzeyleri açısından ergenlik öncesi çocuklar ile ergenlik dönemindeki çocuklar arasında fark bulunamamıştır (131). Yapılan bir çalışmada erkek çocuklarda daha yüksek obestatin düzeyi bulunmuş, ancak obestatin düzeyi ile cinsel gelişim arasında bir ilişki saptanamamıştır (129). Obez çocuklarda yapılan bir çalışmada ise normal kilolu çocuklara kıyasla obestatin düzeyleri yüksek, ghrelin düzeyleri ise düşük bulunmuştur (131). Kilo kaybı ile birlikte ghrelin seviyesi değişmezken, obestatin konsantrasyonlarında bir azalma meydana gelmiştir. Bu bulgular, çocukluk çağı obezitesinde obestatin düzeylerinin düşebileceğini ve daha sonra kilo kaybına yanıt olarak 'normal' değerlere dönme eğilimi gösterebileceğini ve dolayısıyla obezite mekanizmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Ghrelin ve obestatin arasındaki dengenin enerji homeostazı ve vücut ağırlığının düzenlenmesi için önemli olduğu da düşünülmektedir (30). Obestatinin obez çocuklarda normal kilolu çocuklara göre yüksek olduğunu bildiren çalışmalar bulunduğu gibi biraz daha düşük olduğu, fakat normal kilolu gruplarla karşılaştırıldığında hem ghrelin hem de ghrelin/obestatin oranının anlamlı derecede düşük olduğu çalışmalar mevcuttur (129, 131). Bir çalışmada kilo kaybı obez çocuklarda obestatin düzeylerinde artışa neden olmuştur. Bu çocuklarda, ghrelin konsantrasyonları ise kilo kaybıyla birlikte ya değişmemiş ya da artmıştır. (129, 131). Ghrelin/obestatin oranı da kilo kaybından sonra azalmış ya da artmıştır. Kilo vermeyen çocuklarda ne ghrelin ne de obestatin düzeyleri değişmemiştir. Kilo veren çocukların, kilo vermeyenlere kıyasla başlangıçta daha düşük obestatin düzeyi ve daha yüksek ghrelin/obestatin oranına sahip oldukları bulunmuştur. Bu bulgular,

obestatin düzeylerinin çocukluk çağı obezitesinde yükselebileceğini ve kilo vermeye beraber normal değerlere düşebileceğini dolayısıyla obezite mekanizmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Ghrelin ve obestatinin ergenlik döneminde büyüme ve gelişmede önemli bir role sahip oldukları düşünülmektedir (35-37). Bu peptidlerin vücut ağırlığının düzenlenmesine katkıda bulunduğu, ergenlik sırasında enerji dengesindeki değişiklikleri yönettiği ve enerji homeostazının bir parçasını oluşturdukları kabul edilmektedir. Yapılan bir çalışmada ghrelin ve obestatin seviyeleri, obez grupta hem yemek öncesi hem de yemek sonrası normal kilolu gruplara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bununla birlikte obez olan kişiler, normal kilolulara göre daha yüksek bir ghrelin/obestatin oranına sahip olarak bulunmuştur (30). Bu da bu peptitler arasındaki dengenin obezite ve gıda alımında daha önemli olabileceğini düşündürmektedir. Bu iki hormonun enerji metabolizması ve gonadal işlevleri düzenleyici etkileri olması nedeniyle erken puberte fizyopatolojisinde rolü olabileceği ve ilerde tedavi seçenekleri arasında yer alabileceği düşünülmektedir (23, 38). Ghrelinin enerji dengesi ve puberte üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar literatürde daha fazla bulunmasına rağmen obestatinin enerji metabolizması ve pubertedeki rolüne ilişkin çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu nedenle bu tez çalışmasının amacı santral puberte prekoks tanısıyla izlenen kız çocuklarında serum obestatin ve ghrelin düzeylerini ve serum ghrelin/obestatin oranlarını belirleyerek puberte prekoks ile obezite arasındaki ilişkiye ışık tutmaktır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Bu çalışma Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 31.05.2022 onay tarih ve GO-22/503 karar numarası ile onay alındıktan sonra S.B.Ü. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinoloji Bölümü ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Araştırmanın verileri, 1 Haziran 2022 – 15 Ekim 2022 tarihleri arasında toplandı.

#### 3.2. Araştırmanın Örneklemi

Çalışma hasta ve kontrol grubu olmak üzere iki grup üzerinde gerçekleştirildi. Hasta grubuna S.B.Ü. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Endokrinoloji Bölümünde santral puberte prekoks tanısı ile izlenmekte olan, 5-10 yaşları arasında 34 kız çocuğu dahil edildi. Kontrol grubu olarak aynı dönemde aynı polikliniğe büyüme ve gelişmenin izlenmesi için danışmanlık almak amacıyla başvuran ancak herhangi bir hastalık saptanmayan, benzer yaş aralığındaki 34 sağlıklı kız çocuğu alındı.

#### **Hasta Grubu İçin Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri**

1. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Endokrinoloji Polikliniğinde santral puberte prekoks tanısı ile izleniyor olmak
2. Kız hasta olmak
3. GnRH analogu başlamamış olmak

#### **Hasta Grubu İçin Dışlama Kriterleri**

1. Periferik puberte prekoks tanısı almak
2. Puberte başlangıcını etkileyebilecek hipotiroidi, büyüme hormonu eksikliği, konjenital adrenal hiperplazi gibi ek bir hastalığa sahip olmak
3. İlaç kullanıyor olmak
4. Dosya kayıtlarında eksik veri saptamış olmak

### **Kontrol Grubu için Çalışmaya Dahil Olma Kriterleri**

1. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Endokrinoloji Bölümüne aynı dönemde büyüme ve gelişmenin izlenmesi için danışmanlık almak amacıyla başvurmak ve herhangi bir hastalık saptamamak
2. Kız hasta olmak
3. GnRH analogu başlamamış olmak

### **Kontrol Grubu için Dışlama Kriterleri**

1. Erken puberte tanısı almış olmak
2. Puberte başlangıcını etkileyebilecek hipotiroidi, büyüme hormonu eksikliği, konjenital adrenal hiperplazi gibi ek bir hastalığa sahip olmak
3. İlaç kullanıyor olmak
4. Dosya kayıtlarında eksik veri saptamış olmak

### **3.3. Verilerin Toplanması**

Çalışmaya dahil olma kriterlerine uygun kız çocukları ve aileleri çalışma hakkında bilgilendirildi. Çalışmaya katılmaya gönüllü olan ve ailelerinden onam alınan kız çocuklarının takvim yaşı, şikâyet süresi, aile öyküsü, puberte (Tanner) evresi, kemik yaşı, pelvik ultrasonografi bulguları, hormon düzeyleri ile ilişkili verileri dosya kayıtlarından geriye dönük olarak temin edildi.



**Şekil 3.1.** Hasta ve kontrol gruplarının antropometrik ölçümleri

Hasta ve kontrol grubundaki çocukların S.B.Ü. Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarında Beckman Coulter Unicel DxI 800 marka ‘*immunoassay autoanalyzer*’ ile paramanyetik partikül kemilüminesans immünoassay yöntemi ile ölçülen FSH, LH ve östrojen düzeyleri dosya kayıtlarından alındı.

Hasta ve kontrol grubundaki tüm çocukların antropometrik ölçümleri (boy ve kilo) aynı kişi tarafından, sabah aç karnına ve ayakkabılar olmadan yapıldı (Şekil 3.1). Hasta ve kontrol gruplarının beden kütle indeksleri (BKİ) = Ağırlık (kg) / Boy (m<sup>2</sup>) formülüne göre hesaplandı ve kaydedildi. Daha sonra, çocuklardan serum obestatin ve ghrelin düzeylerinin tayini amacıyla bir tüp (5 ml) kan alındı. Alınan kan örnekleri 30 dakika oda ısısında bekledikten sonra 1000g’de 20 dakika santrifüj edilerek serumlar 2 ayrı mikrosantrifüj tüpüne alındı ve -80°C’lik buzdolabında saklandı. Toplanan serumlar soğuk zincirle Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalına getirilerek, serum obestatin ve ghrelin düzeylerinin ölçümleri yapıldı.

### **Serum Obestatin Düzeyinin Tayini**

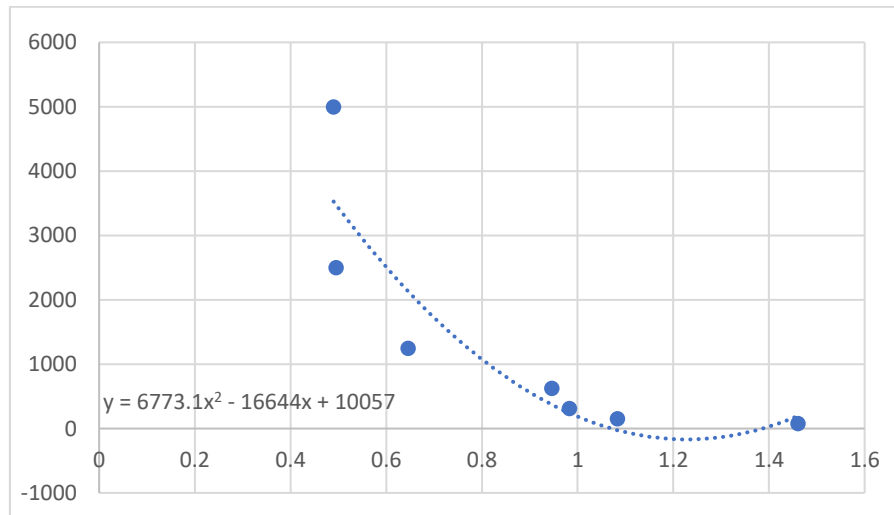
Serum obestatin düzeyinin tayini için insan obestatin enzim bağlı immün assay (ELISA) kiti (ELK biotechnology® ELK5409) kullanıldı. Kullanmadan önce tüm kit bileşenleri ve serum örnekleri oda sıcaklığında (18-25°C) bekletildi. Yıkama solüsyonu distile su ile 25 kat seyreltildi. Biotinlenmiş konjugat (1x) şişe açılmadan önce santrifüj edildi. 990 µl biyotinlenmiş konjugat seyreltici ile 10 µl biyotinlenmiş konjugat 100 kat seyreltildi. Standart, 1.0 ml standart seyreltici ile sulandırılıp oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Stok solüsyonundaki standardın konsantrasyonu 5000 pg/ml idi. 0,5 ml standart seyreltici içeren 7 tüp hazırlandı ve standart serisi oluşturuldu. 5000 pg/ml, 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 625 pg/ml, 312,5 pg/ml, 156,25 pg/ml, 78,13 pg/ml ve 0 pg/ml’lik blank solüsyonu içeren seyreltilmiş 7 tüp standart hazırlandı.

Streptavidin-HRP (1x) şişe açılmadan önce santrifüj edildi. 990 µl HRP 4

(Horseradish peroksidaz) seyreltici ile 10 µl Streptavidin-HRP 100 kat seyreltildi. Standart seyreltici tampon bir boş kuyuya kondu. İlk sıradaki kuyucuklara 50 µl standart çalışma solüsyonu, kalan kuyucuklara 50 µl serum örneği eklendi. Her

kuyuya 50 µl biyotinize antijen solüsyonu eklendi ve iyice karıştırıldı. Yapışkan filmler ile kaplanıp 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Plakadaki sıvıyı döktükten sonra otomatik yıkayıcı ile her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu eklenerek 3 kez yıkama yapıldı. Kuruduktan sonra, her kuyucuğa 100 µl Streptavidin HRP solüsyonu eklendi. Yapışkan filmler ile kaplanıp 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Plakadaki sıvıyı tekrar döktükten sonra otomatik yıkayıcı ile her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu eklenerek 5 kez yıkama yapıldı. Kurutmadan sonra her kuyuya 90 µl TMB (tetrametilbenzidin) eklenip karanlık ortamda 37°C'de 20 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 50 µl stop solüsyonu eklendikten sonra plaka 450 nm'de okutuldu.

Sonuçlar standart eğri grafikleriyle karşılaştırılarak analiz edildi. Tüm numuneler ve standartlar iki kopya halinde test edildi. Ölçümler yarışmalı inhibisyon enzimi immünolojik yöntemi kullanılarak yapıldı, bu nedenle numunedeki insan obestatin konsantrasyonu ile deney sonuçları arasında negatif bir korelasyon vardı. Her standart, kontrol ve numune için çift okumaların ortalamasını alındı. Y ekseninde serum obestatin konsantrasyonu, x ekseninde absorbans ile standart bir eğri oluşturuldu (Şekil 3.2). Bu grafikte standart eğri noktalarından en uygun düz çizgi çizilip regresyon analizi ile belirlendi.



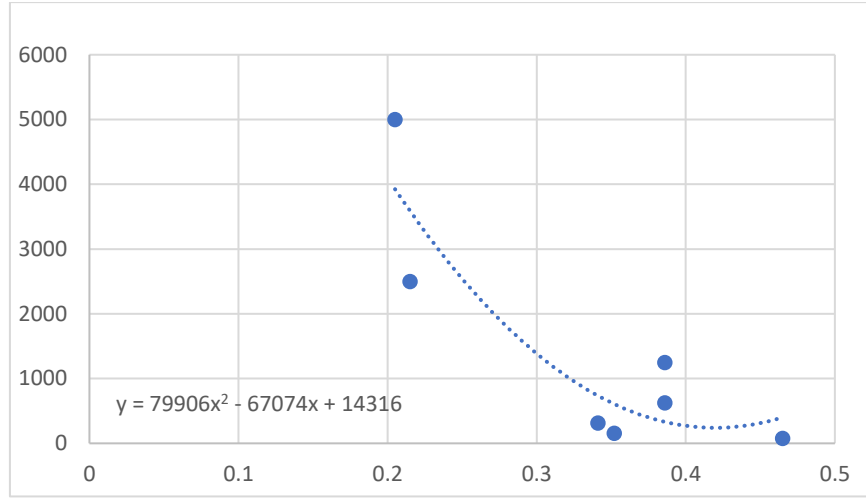
**Şekil 3.2.** Obestatin düzeyleri için standart eğri grafiği

### Serum Ghrelin Düzeyinin Tayini

Serum ghrelin düzeyinin tayini için insan ghrelin ELISA kiti (ELK biotechnology® ELK4080) kullanıldı. Kullanmadan önce tüm kit bileşenleri ve serum örnekleri oda sıcaklığında (18-25°C) bekletildi. Yıkama solüsyonu distile su ile 25 kat seyreltildi. Biotinlenmiş konjugat (1x) şişe açılmadan önce santrifüj edildi. 990 µl biotinlenmiş konjugat seyreltici ile 10 µl biotinlenmiş konjugat 100 kat seyreltildi. Standart, 1.0 ml standart seyreltici ile sulandırılıp oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Stok solüsyonundaki standardın konsantrasyonu 5000 pg/ml'dir. 0,5 ml standart seyreltici içeren 7 tüp hazırlandı ve standart seri oluşturuldu. 5000 pg/ml, 2500 pg/ml, 1250 pg/ml, 625 pg/ml, 312,5 pg/ml, 156,25 pg/ml, 78,13 pg/ml ve 0 pg/ml'lik blank solüsyonu içeren seyreltilmiş 7 tüp standart hazırlandı.

Streptavidin-HRP (1x) şişe açılmadan önce santrifüj edildi. 990 µl HRP seyreltici ile 10 µl Streptavidin-HRP 100 kat seyreltildi. Standart seyreltici tampon bir boş kuyuya kondu. İlk sıradaki kuyucuklara 50 µl standart çalışma solüsyonu, kalan kuyucuklara 50 µl serum örneği eklendi. Her kuyuya 50 µl biyotinize antijen solüsyonu eklendi ve iyice karıştırıldı. Yapışkan filmler ile kaplanıp 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Plakadaki sıvıyı döktükten sonra otomatik yıkayıcı ile her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu eklenerek 3 kez yıkama yapıldı. Kuruduktan sonra, her kuyucuğa 100 µl Streptavidin HRP solüsyonu eklendi. Yapışkan filmler ile kaplanıp 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Plakadaki sıvıyı tekrar döktükten sonra otomatik yıkayıcı ile her kuyucuğa 200 µl yıkama solüsyonu eklenerek 5 kez yıkama yapıldı. Kurutmadan sonra her kuyuya 90µl TMB eklenip karanlık ortamda 37°C'de 20 dakika inkübe edildi. Her kuyuya 50µl stop solüsyonu eklendikten sonra plaka 450 nm'de okutuldu.

Sonuçlar standart eğri grafikleriyle karşılaştırılarak analiz edildi. Tüm numuneler ve standartlar iki kopya halinde test edildi. Bu deney yarışmalı inhibisyon enzimi immünolojik yöntemi kullanılarak yapılmıştır, bu nedenle numunedeki insan ghrelin konsantrasyonu ile deney sonuçları arasında negatif bir korelasyon vardır. Her standart, kontrol ve numune için çift okumaların ortalamasını alındı. Y ekseninde insan ghrelin konsantrasyonu, x ekseninde absorbans ile standart bir eğri oluşturuldu (Şekil 3.3). Bu grafikte standart eğri noktalardan en uygun düz çizgi çizilip regresyon analizi ile belirlendi.



**Şekil 3.3.** Ghrelin düzeyleri için standart eğri grafiği

### 3.4. Verilerin Değerlendirilmesi

Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma ve/veya medyan (min-maks), kategorik veriler ise sayı ve yüzde şeklinde ifade edildi. Sürekli değişkenlerin normallik analizleri Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. Normal dağılıma uygun çıkan iki grup arasındaki analizlerde Student-T testi, uygun çıkmayan değişkenlerde iki grup arasındaki analizlerde Mann-Whitney U testi, üç grup ve üzeri arasındaki analizlerde ise Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırması normal dağılıma uygunsa Fisher testi ile değilse Ki-Kare testi ile yapıldı. Değişkenler arasındaki korelasyonlar Spearman Korelasyon testi ile test edildi. Analizler IBM SPSS versiyon 26.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) ile yapılarak, istatistiksel anlamlılık düzeyi  $P < 0,05$  olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ortalamaları bakımından anlamlı fark yoktu. Vücut ağırlıklarına bakıldığında vücut ağırlığının hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Boy uzunluklarına bakıldığında değerlerin hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu saptandı ( $P=0,010$ ). Beden kütle indeksleri karşılaştırıldığında hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu, ancak aradaki farkın anlamlı olmadığı saptandı. Hasta ve kontrol gruplarının yaş, vücut ağırlığı, boy ve BKİ değerleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Kontrol ve hasta gruplarının yaş, vücut ağırlığı, boy ve BKİ değerlerinin karşılaştırılması

	<b>Kontrol grubu (n = 34)</b>	<b>Hasta grubu (n = 34)</b>	<b>P</b>
<b>Yaş (yıl)</b>	8,03 ± 1,33	8,06 ± 0,77	0,912
<b>VA (kg)</b>	32,73 ± 9,40	35,54 ± 9,41	0,224
<b>Boy (cm)</b>	131,75 ± 7,88	136,77 ± 7,72	<b>0,010</b>
<b>BKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b>	18,57 ± 4,02	18,79 ± 3,64	0,629
Veriler Student-T Testi ile değerlendirilmiş ve ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. VA: vücut ağırlığı, BKİ: beden kütle indeksi			

Hasta ve kontrol gruplarında LH ve FSH hormonlarının düzeyleri kıyaslandığında hem LH değerlerinin hem de FSH değerlerinin hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu saptandı ( $P<0,001$ ). Kemik yaşının da yine hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu bulundu ( $P<0,001$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Kontrol ve hasta gruplarının LH, FSH ve kemik yaşı değerleri yönünden karşılaştırılması

	<b>Kontrol grubu (n = 34)</b>	<b>Hasta grubu (n = 34)</b>	<b>P</b>
<b>LH (mIU/ml)</b>	0,21 (0,19-0,89)	7,17 (1,93-45,12)	<b>&lt;0,001</b>
<b>FSH (mIU/ml)</b>	1,75 (0,38-14,06)	11,24 (4,43-36,29)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Kemik yaşı (yaş)</b>	9,0 (5,0-11,0)	10,0 (8,0-12,0)	<b>&lt;0,001</b>
Veriler Mann-Whitney U Testi ile değerlendirilmiş ve medyan (min-maks) olarak verilmiştir. LH: luteinize edici hormon, FSH: folikül uyarıcı hormon			

Kız çocuklarının östrojen (E2) seviyeleri laboratuvar tarafından  $<20$  pg/ml veya  $\geq 20$  pg/ml şeklinde kategorik olarak verildiğinden, gruplar arasında östrojen düzeylerinin kıyaslanması da bu sınıflamaya uygun şekilde yapıldı. E2 düzeyi  $\geq 20$  pg/ml olan kız çocuklarının oranının hasta grubunda (%35,3), kontrol grubuna göre (%12,1) yüksek olduğu bulundu ( $P=0,043$ ). Çocukların Tanner evrelemelerine bakıldığında da T2 üzeri meme evresine sahip hasta oranının (%47,1), kontrol grubuna göre (%2,9) yüksek olduğu saptandı ( $P<0,001$ ). P2 üzeri puberte evresine sahip hasta oranının da (%44,1) yine kontrol grubuna kıyasla (%11,7) yüksek olduğu görüldü ( $P<0,001$ ) (Tablo 4.3).

Hasta grubunda Tanner evresi T1 olanların LH düzeyleri, T2, T3 ve T4 evresinde olanların LH düzeylerine göre yüksek olsa da evreler arasında anlamlı fark saptanamadı ( $P=0,789$ ). Kontrol grubunda Tanner evresi T1 ve T2 olanlarda LH düzeylerinin benzer olduğu, evreler arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ( $P=0,285$ ) (Tablo 4.4).



**Tablo 4.3.** Kontrol ve hasta gruplarının östrojen seviyeleri ve Tanner (Telarş ve Pubarş) evrelerinin karşılaştırılması

	<b>Kontrol grubu (n, %)</b>	<b>Hasta grubu (n, %)</b>	<b>P</b>
<b>E2 (pg/ml)</b>			
<20	29 (87,9)	22 (64,7)	<b>0,043*</b>
≥20	4 (12,1)	12 (35,3)	
<b>Telarş evresi</b>			
<b>T1</b>	17 (50,0)	4 (11,8)	<b>&lt;0,001**</b>
<b>T2</b>	16 (47,1)	14 (41,2)	
<b>T3</b>	0 (0,0)	11 (32,4)	
<b>T4</b>	1 (2,9)	5 (14,7)	
<b>Pubarş evresi</b>			
<b>P1</b>	12 (35,3)	7 (20,6)	<b>0,022*</b>
<b>P2</b>	18 (52,9)	12 (35,3)	
<b>P3</b>	3 (8,8)	14 (41,2)	
<b>P4</b>	1 (2,9)	1 (2,9)	
Veriler *Fisher testi veya ** Ki-kare testi ile değerlendirilmiş ve sayı, yüzde (n, %) olarak verilmiştir. E2: Östrojen			

**Tablo 4.4.** Kontrol ve hasta grubunda LH düzeyi ile Tanner evresi arasındaki ilişki

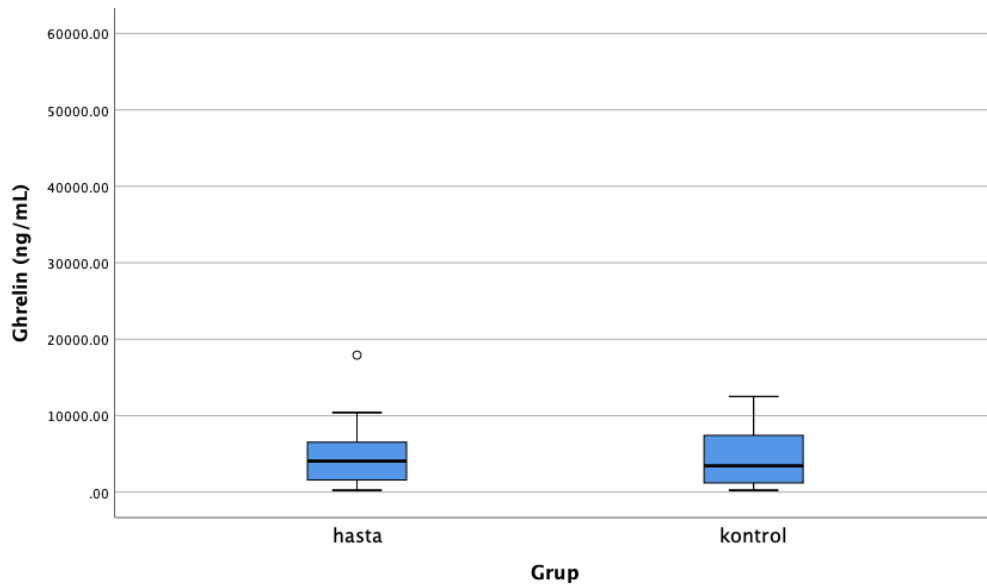
	<b>Kontrol grubu LH düzeyi</b>	<b>P</b>	<b>Hasta grubu LH düzeyi</b>	<b>P</b>
<b>Telarş Evresi</b>				
<b>T1</b>	0,33 (0,19-0,89)	0,285	15,20 (5,21-26,0)	0,789
<b>T2</b>	0,33 (0,20-0,57)		7,95 (1,93-45,2)	
<b>T3</b>	-		7,35 (4,0-27,5)	
<b>T4</b>	0,68 (0,68-0,68)		6,41 (2,03-8,0)	
* Veriler Kruskal Wallis Testi ile değerlendirilmiş ve medyan (min-maks) olarak verilmiştir. LH: Lüteinize edici hormon				

Hasta ve kontrol grupları serum ghrelin düzeyi açısından değerlendirildiğinde hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu, ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $P=0,801$ ) (Şekil 4.1). Obestatin değerlerinin ise hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğu belirlendi ( $P=0,003$ ) (Şekil 4.2). Ghrelin/obestatin oranlarına bakıldığında da hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük olduğu belirlendi ( $P=0,023$ ) (Şekil 4.3). Hasta ve kontrol gruplarının serum ghrelin ve obestatin düzeyleri ile ghrelin/obestatin oranlarının karşılaştırılması Tablo 4.5'te verilmiştir.

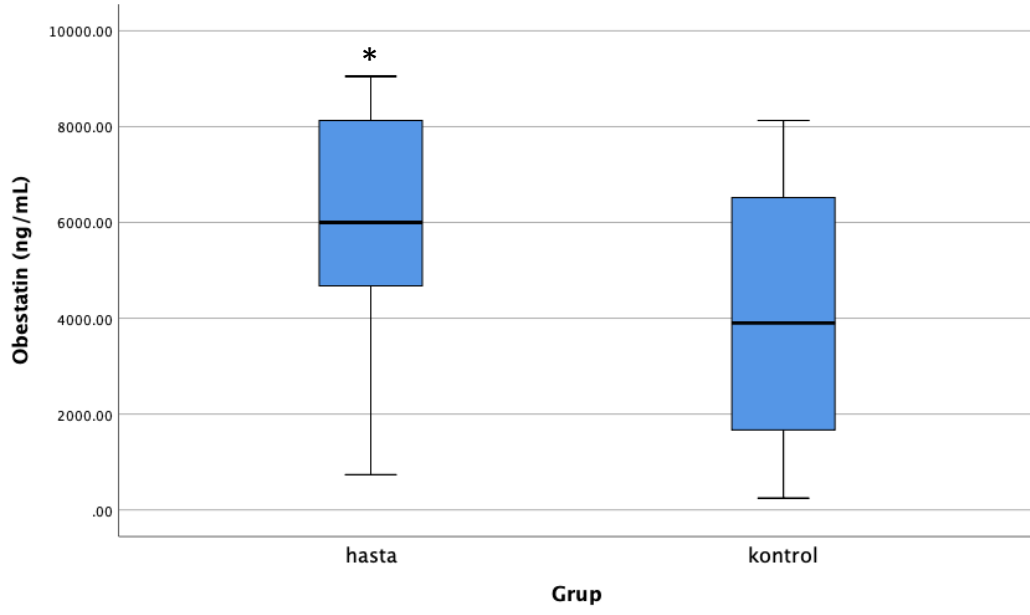
**Tablo 4.5.** Kontrol ve hasta gruplarının ghrelin ve obestatin düzeyleri ile ghrelin/obestatin oranlarının karşılaştırılması

	<b>Kontrol grubu</b> (n = 34)	<b>Hasta grubu</b> (n = 34)	<b>P</b>
<b>Ghrelin (ng/ml)</b>	3427,49 (240,93-12500,57)	4046,57 (240,36-50907,65)	0,801
<b>Obestatin (ng/ml)</b>	3902,20 (244,05-8127,24)	5998,66 (732,68-9051,11)	<b>0,003</b>
<b>Ghrelin/Obestatin</b>	1,32 (0,09-20,75)	0,71 (0,045-11,36)	<b>0,023</b>

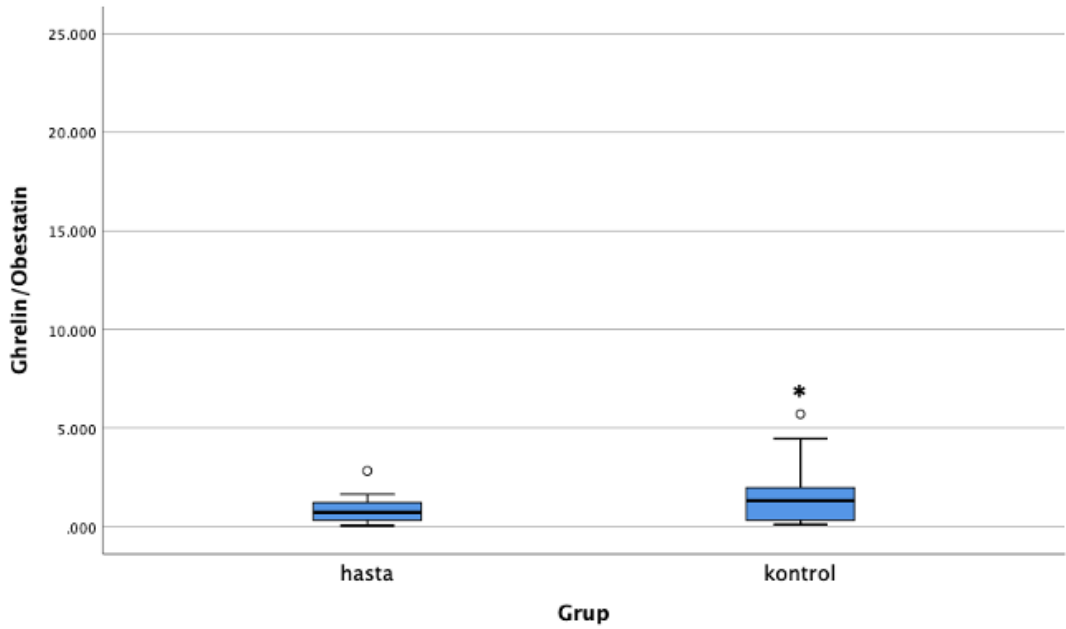
Veriler Mann-Whitney U Testi ile değerlendirilmiş ve medyan (min-maks) olarak verilmiştir.



**Şekil 4.1.** Hasta ve kontrol gruplarında ghrelin seviyeleri



Şekil 4.2. Hasta ve kontrol gruplarında obestatin seviyeleri. \* $P=0,003$



Şekil 4.3. Hasta ve kontrol gruplarında ghrelin/obestatin oranları \* $P=0,023$

Hasta grubunda ghrelin, obestatin, ghrelin/obestatin değerleri ile BKİ, LH, FSH ve kemik yaşı arasında korelasyon olup olmadığı incelendiğinde, LH düzeyi ile obestatin, ghrelin ve ghrelin/obestatin düzeyleri arasında korelasyon tespit edilememiştir (sırasıyla  $r = -0,138$ ,  $P = 0,438$ ;  $r = -0,145$ ,  $P = 0,412$ ;  $r = -0,067$ ,  $P = 0,706$ ). BKİ ile obestatin, ghrelin ve ghrelin/obestatin düzeyleri arasında da anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır (sırasıyla  $r = -0,011$ ,  $P = 0,952$ ;  $r = 0,235$ ,  $P = 0,181$ ;  $r = -0,111$ ,  $P = 0,533$ ). Kemik yaşı ile LH düzeyleri arasında ( $r = -0,204$ ,  $P = 0,248$ ) ve BKİ ile LH düzeyleri arasında ( $r = -0,132$ ,  $P = 0,458$ ) da bir korelasyon tespit edilememiştir.

## 5. TARTIŞMA

Santral puberte prekoks (SPP) HHG aksının aktifleşmesi sonucu kızlarda 8 yaşından önce erkeklerde ise 9 yaşından önce puberte bulgularının başlamasıdır. Santral puberte prekoks kızlarda daha sık görülmektedir (105). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, kızlarda puberte başlangıç yaşının önceki yıllara göre daha erkene kaydığını göstermektedir. Puberte başlangıcına neden olan mekanizmalar hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Enerji dengesi ve erken puberte arasında bir ilişki olup olmadığı da henüz tam olarak ortaya konamamıştır. Erken puberte ile çevresel faktörlerin ve beslenme alışkanlıklarının ilişkisinin incelendiği ülkemizde yapılan bir çalışmada fastfood gibi karbonhidrat ve yağdan zengin besin tüketiminin artması, fiziksel aktivitenin azalması, endokrin bozuculara maruziyet gibi faktörlerin erken puberte ile pozitif yönde ilişkisinin olduğu bulunmuştur (105).

Yapılan çalışmalar puberte başlangıcının erkene kaymasının olumsuz sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir. Golub ve diğ. puberte başlangıç yaşını yetişkinlikte ortaya çıkan bazı hastalıklarla ilişkilendirerek puberte zamanlamasındaki değişikliklerin yetişkin ve çocuk sağlığını etkilediğini ortaya koymuştur (139). Gonadal aksın harekete geçmesinin erken tanınması, SPP olgularına zamanında GnRH tedavisi başlanmasına, bu olgularda yeterli boy artışının sağlanmasına ve yetişkinlikte ortaya çıkabilecek bazı hastalıkların önlenmesine olanak tanıyacaktır. Bu nedenle etiyojide hala aydınlatılmayı bekleyen, literatürde yer almayan etkenlerin belirlenmesi önem arz etmektedir.

Çocuklarda hareketsiz yaşam, enerji alımının fazla olması gibi nedenler obezite görülme sıklığının artmasına neden olmuştur. Obezitenin artışı ve puberte başlangıç yaşının küçülmesi bu ikisi arasında bir ilişki olma ihtimalini düşündürmektedir (40). Obezitenin pubertal gelişimi etkilediği varsayılmaktadır fakat bu ilişkinin çift yönlü olması ihtimali de söz konusudur yani erken ergenlik yağlanma artışı nedeniyle obeziteyi tetikleyebilmektedir (91, 140).

Obez kızlarda ortalama LH seviyesi ve GnRH'ye LH yanıtının azaldığı gösterilmiştir. Obez kızlarda düşük bulunan LH değeri, yüksek östrojen ve androjen seviyesi ile ilişkili olabilir. Yüksek östrojen ve androjen düzeyi, HHG aksının duyarlılığının azalmasına sebep olabilir. Bu durum da negatif geri bildirim

inhibisyonunun artmasına neden olabilir (141). Bu veriler, diğer çalışmalarda gösterildiği gibi obezitenin erken pubertede HHG aksı üzerinde inhibitör etkiye sahip olma durumu ile tutarlıdır (142, 143).

Birçok çalışmada kızlarda erken pubertal olgunlaşmanın son yıllarda artan BKİ veya adipozite ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmalarla açlık plazma total ghrelin seviyeleri ile BKİ arasında negatif bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (129, 131). Bizim çalışmamızda kontrol ve hasta grupları arasında BKİ açısından anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ghrelin düzeyi ve BKİ arasında negatif bir korelasyon olduğu görülmüş fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Aynı zamanda hasta ve kontrol grubunda obestatin düzeyi ve BKİ arasında herhangi bir korelasyon görülmemiştir.

Obestatin düzeyi ve BKİ arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada BKİ arttıkça obestatin düzeylerinin düştüğü gözlenmiştir (138). Obez kadınlarda yapılan bir başka çalışmada ise ghrelin/obestatin oranının düştüğü bulunmuştur (144). Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında BKİ açısından anlamlı bir fark olmamasına rağmen obestatin düzeyleri hasta grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni her ne kadar deneklerin kiloları ve BKİ'leri aynı olsa da yağ oranlarının farklı olması olabilir. Deneklerin yağ oranlarını ölçmemiş olmamız çalışmamızın kısıtlılıkları arasında sayılabilir.

Bu çalışma obestatin ve ghrelinin erken pubertede enerji dengesindeki değişikliklerle nasıl bir ilişkisi olduğunu belirlemek için yapılmıştır. Ghrelin ve obestatin, enerji alımı ve iştah üzerinde belirgin bir etki gösterir ve puberte dönemindeki diğer fizyolojik süreçlerde olduğu gibi enerji dengesi ve metabolizmada da birtakım değişikliklerin olduğu bilinmektedir. Ghrelinin kilo alıp verme dönemlerinde serum düzeylerinde meydana gelen değişiklikler nedeniyle enerji dengesinde rolü olduğu bilinmektedir fakat obestatinin rolüne ilişkin bilgiler, sınırlı sayıda çalışma nedeniyle yetersizdir (23).

Yapılan bir çalışmada ghrelin konsantrasyonlarının, obez kızlarda beslenme durumundan ziyade beden kütle indeksini yansıttığı bulunmuştur. Obez ve zayıf grubun karşılaştırıldığı bu çalışmada kızlarda ghrelin salgısında gün içinde değişen düzeyler tanımlanmıştır, ghrelin tokluk durumunda azalır öğün öncesi artmıştır. Bununla birlikte, zayıf kızlarda ghrelin düzeyindeki değişkenlik daha belirgindir.

Obez kızlarda ghrelin seviyeleri, uzun süreli açlık durumunda artmamaktadır (145). Gıda alımının çocuklarda ve ergenlerde ghrelin plazma seviyeleri üzerindeki etkisine ilişkin veriler değişkendir. Ghrelin plazma düzeylerinin erkek çocuklara göre kızlarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (78, 93). Lebenthal ve ark. yaptığı bir çalışmada puberte öncesi dönemdeki çocuklarda cinsiyet hormonlarındaki artışla beraber erkeklerde plazma ghrelin seviyelerinde belirgin bir düşüş gözlenirken kızlarda bu düşüş gözlenmemiştir (146). Bu da cinsiyet hormonlarının ghrelin salgısını düzenleyebildiğini ve pubertedeki ghrelin düzeyi değişikliklerinden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte bazı çalışmalar çocuklar ve yetişkinler arasında ghrelin plazma seviyelerinde hiçbir fark olmadığını, aynı zamanda artan yaş veya cinsel gelişimle birlikte açlık ghrelin plazma seviyelerinin azalmadığını göstermektedir (76, 80, 95-97). Bizim çalışmamızda ise hasta grubunda kontrol grubuna göre ghrelin düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Zhang ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada obez çocuklarda obestatin seviyeleri yüksek, ghrelin seviyeleri ise düşük bulunmuştur (22). Bu durum artan kiloya uyum olarak düşünülebilir, çünkü ghrelin kilo alımını uyarır (120). Aly ve ark.'nın yaptığı bir başka çalışmada ise obez çocukların ghrelin, obestatin ve ghrelin/obestatin oranlarının açlık serum seviyeleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (147). Obestatin toplam enerji alımı ile pozitif ilişki gösterirken ghrelin/obestatin oranı negatif ilişki göstermiştir. Bu da obestatinin oreksijenik etkisi olduğunu gösterir. Fakat obestatinin intraserebroventriküler uygulamasından sonra anorektik etki gösterdiği de bilinmektedir (22). Ghrelinin obestatin dengesini bozduğu, bu nedenle obezitenin etiyolojisi ve patofizyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda ise obestatin düzeyleriyle BKİ arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır.

Bu çalışmada önceki çalışmalarla uyumlu olarak obestatin düzeylerinin ghrelin düzeyleri ile korelasyon göstermediği bulunmuştur (136). Obestatin ve ghrelin aynı genden sentezlenmeleri nedeniyle molaritelerinin eşit olması beklenmektedir. Plazma düzeylerinin farklı oluşu obestatinin fizyolojik olarak işlevsel bir peptit olduğunu göstermektedir. Reinehr ve ark.'nın obez çocuk ve ergenlerde yaptığı bir çalışmada kilo kaybından önce ve sonra toplam ghrelin ve

obestatin seviyelerine bakılmış ve ghrelin seviyeleri obestatinde yaklaşık 10 kat daha fazla bulunmuştur (131). Bizim çalışmamızda ise obestatin düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olarak bulunmuştur. Yine hasta grubunda obestatin düzeyi ghrelinden yaklaşık 1,5 kat yüksek bulunmuş fakat ghrelin ve obestatin düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.

Sıçanlarda, ghrelin ve obestatinin ultradiyen bir ritimle salgılandığı gösterilmiştir (136, 148). Kemirgenlerde, ghrelin ve obestatin eşmolar miktarlarda uygulandığında obestatinin GH salgısını ve ghrelin tarafından indüklenen gıda alımını antagonize ettiği gösterilmiştir (133, 136). Puberte döneminde ghrelin ile obestatin konsantrasyonları ve bu iki peptidin yağlanma, beslenme ve fiziksel aktiviteyle ilişkisini inceleyen bir çalışmada, ghrelin seviyelerinin obez çocuklarda daha düşük olduğu ve BKİ düşük olan çocuklar ile puberte dönemindeki çocuklarda daha yüksek olduğu görülmüştür (23). Puberte döneminde yüksek ghrelin konsantrasyonları muhtemelen enerji ihtiyacının yüksek olması nedeniyle kilo kaybını önlemek için telafi edici bir mekanizmadır. Bizim çalışmamızda ghrelin düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olduğu, ancak aradaki farkın anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $P=0.801$ ).

Ghrelin düzeyleri ergenlik döneminde azalır ve beslenme durumunun iyi bir göstergesidir. Obez kişilerde daha düşük seviyelerde ve düşük kilolu çocuklarla ergenlerde daha yüksek seviyelerdedir (23). Literatürde erken pubertede ghrelin düzeyi ölçümü yapılan çok az sayıda çalışma mevcuttur ve çalışmaların çoğunda bizim çalışmamızda da olduğu gibi sadece total ghrelin düzeyi ölçülmüştür. Bu ölçümlerde ghrelin salgısının diüurnal ritm göstermesinden kaynaklanan metodolojik sorunlar bulunmaktadır.

Obestatin, daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da ghrelin ile korele gözükmemektedir (23). Aynı genden türetildikleri halde böyle bir farkın olması obestatinin fizyolojik etkilerinin araştırılmaya açık olduğunu göstermektedir. Hem ghrelin hem de obestatinin biyolojik aktiviteleri için post-translasyonel süreçten geçerler. Obestatin ölçümü yapmak için mevcut tekniklerin güvenilirliği kanda hızla bozunması nedeniyle tartışmalıdır. Ayrıca dolaşımda hızla bozunmasının ölçümü zorlaştırdığı düşünülmektedir.



Ghrelin/obestatin oranı, bozulmuş enerji homeostazı ve GH salgısı ile bağlantılı çeşitli patolojilerde araştırılmıştır. Anoreksiya nervozalı genç kızlarda obestatin ve ghrelin/obestatin oranının azaldığı bulunurken yeme bozukluğu olmayan zayıf kadınlarda bu oran değişmemiştir (149). 2017 yılında Çin'de yapılan ergenlik dönemindeki polikistik over sendromlu kızlarda ghrelin/obestatin oranının değişimini inceleyen bir çalışmada PKOS grubunda serum ghrelin düzeyleri ve ghrelin/obestatin oranı kontrol grubuna göre düşük, serum obestatin düzeyleri ise yüksek bulunmuştur (150). Bu da ghrelin/obestatin oranındaki dengenin enerji homeostazını modüle etmekte etkili olduğunu ve pubertal gelişim sürecindeki hastalıkların fizyopatolojisinde rol alabileceğini düşündürmektedir. Literatürde ghrelin/obestatin oranının pubertedeki rolünü inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamız erken pubertede ghrelin/obestatin oranının bakıldığı ilk çalışmadır. Yaptığımız çalışmada ghrelin/obestatin oranı hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, ghrelin/obestatin oranının enerji durumun bir belirteci olarak fizyolojik öneminin belirlenmesi ve erken puberte fizyopatolojisindeki rolünün incelenmesi için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Çalışmamızın sonuçları değerlendirilirken kısıtlılıkları da göz önüne alınmalıdır:

- BKİ'leri bakımından kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat vücut yağ oranlarının farklı olup olmadığı bilinmemektedir. Vücut yağ oranları ile obestatin ve ghrelin düzeyleri arasında korelasyon bakılması sonuçların daha doğru yorumlanmasını sağlayabilir.
- Literatürde total ghrelin düzeyi ve açil ghrelin düzeyi bakılan farklı çalışmalar mevcuttur. Bizim çalışmamızda bütçe kısıtlılığı nedeniyle sadece total ghrelin düzeyi ölçülmüştür. Özellikle ghrelin/obestatin düzeylerinin bakıldığı çalışmalarda açil ghrelin düzeyi ayrıca incelenmiştir. Bu değerlendirmelerin yapılabilmesi için aynı zamanda açil ghrelin düzeylerinin bakılması daha doğru sonuç verecektir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızdaki veriler santral puberte prekoks hastalarında serum obestatin düzeyinin yüksek ve ghrelin/obestatin oranının düşük olduğunu göstermektedir. Ghrelin düzeyleri açısından ise hasta grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durumda H<sub>2</sub> ve H<sub>3</sub> hipotezlerimiz doğrulanmıştır. BKİ açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamış olmasına rağmen obestatin düzeyleri hasta grubunda daha yüksek çıkmıştır. BKİ ile obestatin, ghrelin düzeyleri ve ghrelin/obestatin oranları arasında herhangi bir korelasyon izlenmemiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda obez çocuklarda açlık total ghrelin plazma seviyesinin obez çocuklarda normal kilolu çocuklara göre daha yüksek; ghrelin/obestatin oranının ise tıpkı bizim çalışmamızın hasta grubunda olduğu gibi daha düşük olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda hasta grubunun BKİ normal değer aralığında olmasına rağmen obestatin düzeyi yüksek bulunmuştur. Bu da şimdi olmasa dahi erken puberte hastalarının ileride obeziteye yatkınlığının olabileceğini, obestatin düzeyinin yüksek olmasının da bu yatkınlığa dair bir ipucu olabileceğini düşündürmektedir.

Bu tez çalışması, santral puberte prekoks hastalarında serum obestatin düzeyi ve ghrelin/obestatin düzeyi ölçümünü ilk kez, yine santral puberte prekoks hastalarında ghrelin düzeyini obestatinle birlikte inceleyen ilk çalışma olması bakımından önemlidir. Obestatinin ergenlikteki işlevi, obezitede ve erken puberte etiyolojisindeki rolü hakkında bilgiyi ortaya koyabilmemiz için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca puberte zamanının erkene çekilmesinin son yıllarda artan vücut yağ oranının sonucu mu yoksa nedeni mi olduğunu incelemek için çok miktarda çalışma alanı mevcuttur, bizim çalışmamız da obestatinin bu alanlardan biri olduğunu düşündürmektedir. Obestatin ve ghrelinin erken ergenlik dönemindeki rolünü, obezite ve erken puberte ile ilişkisini net bir şekilde aydınlatmak için daha fazla sayıda denek içeren daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Wheeler, M.D., Physical changes of puberty. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 1991. 20(1): p. 1-14.
2. Terasawa, E., D.L. Fernandez, Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev*, 2001. 22(1): p. 111-51.
3. Partsch, C.J., S. Heger, W.G. Sippell, Management and outcome of central precocious puberty. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2002. 56(2): p. 129-48.
4. Papathanasiou, A., C. Hadjiathanasiou, Precocious puberty. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2006. 3 Suppl 1: p. 182-7.
5. Nelson Essentials of Pediatrics. Chapter 174: Disorders of puberty, ed. M. Kliegman. 2019, Elsevier. 656-663.
6. Parent, A.S., The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration. *Endocr Rev*, 2003. 24(5): p. 668-93.
7. Delemarre-van de Waal, H., Secular trend of timing of puberty. *Endocr Dev*, 2005. 8: p. 1-14.
8. Euling, S.Y., Role of environmental factors in the timing of puberty. *Pediatrics*, 2008. 121 Suppl 3: p. S167-71.
9. Karlberg, J., Secular trends in pubertal development. *Horm Res*, 2002. 57 Suppl 2: p. 19-30.
10. Juul, A., Pubertal development in Danish children: comparison of recent European and US data. *Int J Androl*, 2006. 29(1): p. 247-55; discussion 286-90.
11. Dunger, D.B., M.L. Ahmed, K.K. Ong, Early and late weight gain and the timing of puberty. *Mol Cell Endocrinol*, 2006. 254-255: p. 140-5.
12. Wang, Y., Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls. *Pediatrics*, 2002. 110(5): p. 903-10.
13. Rosenfield, R.L., R.B. Lipton, M.L. Drum, Thelarche, pubarche, and menarche attainment in children with normal and elevated body mass index. *Pediatrics*, 2009. 123(1): p. 84-8.

14. Buyken, A.E., N. Karaolis-Danckert, T. Remer, Association of prepubertal body composition in healthy girls and boys with the timing of early and late pubertal markers. *Am J Clin Nutr*, 2009. 89(1): p. 221-30.
15. Tenedero, C.B., K. Oei, M.R. Palmert, An Approach to the Evaluation and Management of the Obese Child With Early Puberty. *J Endocr Soc*, 2022. 6(1): p. bvab173.
16. Castellano, J.M., M. Tena-Sempere, Metabolic control of female puberty: potential therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets*, 2016. 20(10): p. 1181-93.
17. Vazquez, M.J., I. Velasco, M. Tena-Sempere, Novel mechanisms for the metabolic control of puberty: implications for pubertal alterations in early-onset obesity and malnutrition. *J Endocrinol*, 2019. 242(2): p. R51-r65.
18. Rodríguez-Vázquez, E., M. Tena-Sempere, J.M. Castellano, Mechanisms for the metabolic control of puberty. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*, 2020. 14: p. 78-84.
19. Sato, T., Structure, regulation and function of ghrelin. *J Biochem*, 2012. 151(2): p. 119-28.
20. Chanoine, J.P., A.C. Wong, V. Barrios, Obestatin, acylated and total ghrelin concentrations in the perinatal rat pancreas. *Horm Res*, 2006. 66(2): p. 81-8.
21. Ren, A.J., Obestatin, obesity and diabetes. *Peptides*, 2009. 30(2): p. 439-44.
22. Zhang, J.V., Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*, 2005. 310(5750): p. 996-9.
23. King, N.A., C.H. Gibbons, C. Martins, Ghrelin and obestatin concentrations during puberty: relationships with adiposity, nutrition and physical activity. *Med Sport Sci*, 2010. 55: p. 69-81.
24. Villarreal, D., Diverse and Complementary Effects of Ghrelin and Obestatin. *Biomolecules*, 2022. 12(4).
25. Nakazato, M., A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature*, 2001. 409(6817): p. 194-8.
26. Tschöp, M., D.L. Smiley, M.L. Heiman, Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*, 2000. 407(6806): p. 908-13.

27. Wren, A.M., Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(12): p. 5992.
28. Tschöp, M., Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*, 2001. 50(4): p. 707-9.
29. McLaughlin, T., Plasma ghrelin concentrations are decreased in insulin-resistant obese adults relative to equally obese insulin-sensitive controls. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(4): p. 1630-5.
30. Guo, Z.F., Circulating preprandial ghrelin to obestatin ratio is increased in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. 92(5): p. 1875-80.
31. Pradhan, G., S.L. Samson, Y. Sun, Ghrelin: much more than a hunger hormone. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2013. 16(6): p. 619-24.
32. Soriano-Guillén, L., Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr*, 2004. 144(1): p. 30-5.
33. Tena-Sempere, M., Ghrelin, the gonadal axis and the onset of puberty. *Endocr Dev*, 2013. 25: p. 69-82.
34. Pomerants, T., Relationship between ghrelin and anthropometrical, body composition parameters and testosterone levels in boys at different stages of puberty. *J Endocrinol Invest*, 2006. 29(11): p. 962-7.
35. Vösoberg, K., Adipocytokine and ghrelin levels in relation to body composition in rhythmic gymnasts entering into puberty: a 3-year follow-up study. *Pediatr Exerc Sci*, 2014. 26(4): p. 477-84.
36. Whatmore, A.J., Ghrelin concentrations in healthy children and adolescents. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2003. 59(5): p. 649-54.
37. Cheng, H.L., Ghrelin and Peptide YY Change During Puberty: Relationships With Adolescent Growth, Development, and Obesity. *J Clin Endocrinol Metab*, 2018. 103(8): p. 2851-2860.
38. Hassouna, R., P. Zizzari, V. Tolle, The ghrelin/obestatin balance in the physiological and pathological control of growth hormone secretion, body composition and food intake. *J Neuroendocrinol*, 2010. 22(7): p. 793-804.

39. Latronico, A.C., V.N. Brito, J.-C. Carel, Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2016. 4(3): p. 265-274.
40. Alotaibi, M.F., Physiology of puberty in boys and girls and pathological disorders affecting its onset. *Journal of Adolescence*, 2019. 71: p. 63-71.
41. Bordini, B., R.L. Rosenfield, Normal pubertal development: part II: clinical aspects of puberty. *Pediatr Rev*, 2011. 32(7): p. 281-92.
42. Pinyerd, B., W.B. Zipf, Puberty-timing is everything! *J Pediatr Nurs*, 2005. 20(2): p. 75-82.
43. Nathan, B.M., M.R. Palmert, Regulation and Disorders of Pubertal Timing. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 2005. 34(3): p. 617-641.
44. Dunkel, L., R. Quinton, TRANSITION IN ENDOCRINOLOGY: Induction of puberty. *European Journal of Endocrinology*, 2014. 170(6): p. R229-R239.
45. Miller, W.L., Androgen biosynthesis from cholesterol to DHEA. *Mol Cell Endocrinol*, 2002. 198(1-2): p. 7-14.
46. Kliegman, R.M., Nelson. *Tratado de pediatria*. 2020: Elsevier Health Sciences.
47. Mehul T. Dattani, C.G.D.B., *Brook's Clinical Pediatric Endocrinology*, ed. Wiley-Blackwell. 2019
48. Kim E. Barrett, S.M.B., Heddwen L. Brooks, Jason X.-J. Yuan, MD *Ganong's Review of Medical Physiology*. 2019.
49. Kuiri-Hänninen, T., U. Sankilampi, L. Dunkel, Activation of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in Infancy: Minipuberty. *Hormone Research in Paediatrics*, 2014. 82(2): p. 73-80.
50. Maione, L., C. Bouvattier, U.B. Kaiser, Central precocious puberty: Recent advances in understanding the aetiology and in the clinical approach. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2021. 95(4): p. 542-555.
51. Javed, Z., U. Qamar, T. Sathyapalan, The role of kisspeptin signalling in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis--current perspective. *Endokrynol Pol*, 2015. 66(6): p. 534-47.

52. Skorupskaite, K., J.T. George, R.A. Anderson, The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update*, 2014. 20(4): p. 485-500.
53. George, J.T., Kisspeptin-10 is a potent stimulator of LH and increases pulse frequency in men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(8): p. E1228-36.
54. Chan, Y.M., Kisspeptin resets the hypothalamic GnRH clock in men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(6): p. E908-15.
55. Chan, Y.M., Kisspeptin administration to women: a window into endogenous kisspeptin secretion and GnRH responsiveness across the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012. 97(8): p. E1458-67.
56. Kuiri-Hänninen, T., Postnatal ovarian activation has effects in estrogen target tissues in infant girls. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013. 98(12): p. 4709-16.
57. Ojeda, S.R., Minireview: the neuroendocrine regulation of puberty: is the time ripe for a systems biology approach? *Endocrinology*, 2006. 147(3): p. 1166-74.
58. Hagen, C.P., Circulating MKRN3 levels decline prior to pubertal onset and through puberty: a longitudinal study of healthy girls. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015. 100(5): p. 1920-6.
59. Abreu, A.P., Central precocious puberty caused by mutations in the imprinted gene MKRN3. *N Engl J Med*, 2013. 368(26): p. 2467-75.
60. Ahmet Yardımcı, H.K., Puberty neuroendocrinology and gonadotropin releasing hormone neurons. *Nobel Med 2019* 2019. 15(2): p. 17-24.
61. Marshall, W., J. Tanner, Variations in pattern of pubertal changes in girls. *Archives of Disease in Childhood*, 1969. 44: p. 291-303.
62. Marshall, W., J. Tanner, Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Archives of Disease in Childhood*, 1970. 45: p. 13-23.
63. Brook, C.G., Mechanism of puberty. *Horm Res*, 1999. 51 Suppl 3: p. 52-4.
64. Abreu, A.P., U.B. Kaiser, Pubertal development and regulation. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2016. 4(3): p. 254-264.
65. Na, J.H., Association between Body Mass Index and Serum Dehydroepiandrosterone Sulfate Level in 8-Year-Old Girls. *J Obes Metab Syndr*, 2018. 27(2): p. 110-116.

66. Reinehr, T., C.L. Roth, Is there a causal relationship between obesity and puberty? *Lancet Child Adolesc Health*, 2019. 3(1): p. 44-54.
67. Rosen, D.S., Physiologic growth and development during adolescence. *Pediatr Rev*, 2004. 25(6): p. 194-200.
68. Wood, C.L., L.C. Lane, T. Cheetham, Puberty: Normal physiology (brief overview). *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2019. 33(3): p. 101265.
69. Rogol, A.D., J.N. Roemmich, P.A. Clark, Growth at puberty. *J Adolesc Health*, 2002. 31(6 Suppl): p. 192-200.
70. Antoniazzi, F., G. Zamboni, Central precocious puberty: current treatment options. *Paediatr Drugs*, 2004. 6(4): p. 211-31.
71. Bundak, R., Puberty and pubertal growth in healthy Turkish girls: no evidence for secular trend. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2008. 1(1): p. 8-14.
72. Choi, J.H., H.W. Yoo, Control of puberty: genetics, endocrinology, and environment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2013. 20(1): p. 62-8.
73. Ayhan Abacı, G.Ç., Murat Aydın, TÜRKİYE MİLLİ PEDIATRİ DERNEĞİ ÇOCUK ENDOKRİNOLOJİSİ VE DİYABET DERNEĞİ ORTAK KILAVUZU, Ç.E.v.D.D. Türkiye Milli Pediatri Derneği, Editor. 2014.
74. Livadas, S., G.P. Chrousos, Control of the onset of puberty. *Curr Opin Pediatr*, 2016. 28(4): p. 551-8.
75. Farello, G., Review of the Literature on Current Changes in the Timing of Pubertal Development and the Incomplete Forms of Early Puberty. *Front Pediatr*, 2019. 7: p. 147.
76. De Leonibus, C., M.L. Marcovecchio, F. Chiarelli, Update on statural growth and pubertal development in obese children. *Pediatr Rep*, 2012. 4(4): p. e35.
77. Leka-Emiri, S., G. Chrousos, C. Kanaka-Gatenbein, The mystery of puberty initiation: genetics and epigenetics of idiopathic central precocious puberty (ICPP). *Journal of Endocrinological Investigation*, 2017. 40: p. 789-802.
78. Morris, D., Familial concordance for age at menarche: analyses from the Breakthrough Generations Study. *Paediatric and Perinatal Epidemiology*, 2011. 25: p. 306-311.



79. Van den Berg, S., Individual differences in puberty onset in girls: bayesian estimation of heritabilities and genetic correlations. *Behavior Genetics*, 2006. 36: p. 261-270.
80. Sharma, J., The genetic contribution to pubertal growth and development studied by longitudinal growth data on twins. *Annals of Human Biology*, 1983. 10: p. 163-171.
81. Treloar, S., N. Martin, Age at menarche as a fitness trait: nonadditive genetic variance detected in a large twin sample. *American Journal of Human Genetics*, 1990. 47: p. 137-148.
82. Lomniczi, A., H. Wright, S.R. Ojeda, Epigenetic regulation of female puberty. *Front Neuroendocrinol*, 2015. 36: p. 90-107.
83. Eckert-Lind, C., Worldwide secular trends in age at pubertal onset assessed by breast development among girls: a systematic review and meta-analysis. *JAMA pediatrics*, 2020. 174(4): p. e195881-e195881.
84. Lopez-Rodriguez, D., Endocrine-disrupting chemicals and their effects on puberty. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2021. 35(5): p. 101579.
85. Mann, D.R., Changes in circulating leptin, leptin receptor, and gonadal hormones from infancy until advanced age in humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003. 88(7): p. 3339-3345.
86. Kaplowitz, P.B., Link between body fat and the timing of puberty. *Pediatrics*, 2008. 121 Suppl 3: p. S208-17.
87. Biro, F.M., P. Khoury, J.A. Morrison, Influence of obesity on timing of puberty. *Int J Androl*, 2006. 29(1): p. 272-7; discussion 286-90.
88. Frisch, R.E., R. Revelle, Height and weight at menarche and a hypothesis of menarche. *Arch Dis Child*, 1971. 46(249): p. 695-701.
89. Ahmed, M.L., K.K. Ong, D.B. Dunger, Childhood obesity and the timing of puberty. *Trends Endocrinol Metab*, 2009. 20(5): p. 237-42.
90. Freedman, D.S., Relation of age at menarche to race, time period, and anthropometric dimensions: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics*, 2002. 110(4): p. e43.

91. Bandini, L.G., Change in leptin, body composition and other hormones around menarche--a visual representation. *Acta Paediatr*, 2008. 97(10): p. 1454-9.
92. Lee, S.Y., Single random measurement of urinary gonadotropin concentration for screening and monitoring girls with central precocious puberty. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 2021. 26(3): p. 178.
93. Yu, X., A comparison of the growth status, level of blood glucose, and lipid metabolism in small for gestational age and appropriate for gestational age girls with central precocious puberty: a retrospective study. *Translational Pediatrics*, 2021. 10(4): p. 783.
94. Willemsen, R.H., Pros and cons of GnRHa treatment for early puberty in girls. *Nat Rev Endocrinol*, 2014. 10(6): p. 352-63.
95. Lakshman, R., Early age at menarche associated with cardiovascular disease and mortality. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009. 94(12): p. 4953-60.
96. Prentice, P., R.M. Viner, Pubertal timing and adult obesity and cardiometabolic risk in women and men: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obes (Lond)*, 2013. 37(8): p. 1036-43.
97. Xhrouet-Heinrichs, D., Longitudinal study of behavioral and affective patterns in girls with central precocious puberty during long-acting triptorelin therapy. *Acta Paediatr*, 1997. 86(8): p. 808-15.
98. Brito, V.N., Central precocious puberty: revisiting the diagnosis and therapeutic management. *Arch Endocrinol Metab*, 2016. 60(2): p. 163-72.
99. Williams, R.M., C.E. Ward, I.A. Hughes, Premature adrenarche. *Arch Dis Child*, 2012. 97(3): p. 250-4.
100. Kaplowitz, P., Clinical characteristics of 104 children referred for evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(8): p. 3644-50.
101. De Vries, L., Premature thelarche: age at presentation affects clinical course but not clinical characteristics or risk to progress to precocious puberty. *J Pediatr*, 2010. 156(3): p. 466-71.
102. Volta, C., Isolated premature thelarche and thelarche variant: clinical and auxological follow-up of 119 girls. *J Endocrinol Invest*, 1998. 21(3): p. 180-3.

103. Kaplowitz, P., Update on precocious puberty: girls are showing signs of puberty earlier, but most do not require treatment. *Adv Pediatr*, 2011. 58(1): p. 243-58.
104. Nella, A.A., Benign vaginal bleeding in 24 prepubertal patients: clinical, biochemical and imaging features. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2014. 27(9-10): p. 821-5.
105. Lebrethon, M.C., J.P. Bourguignon, Management of central isosexual precocity: diagnosis, treatment, outcome. *Curr Opin Pediatr*, 2000. 12(4): p. 394-9.
106. Teilmann, G., Prevalence and incidence of precocious pubertal development in Denmark: an epidemiologic study based on national registries. *Pediatrics*, 2005. 116(6): p. 1323-8.
107. Rosenfield, R.L., D.W. Cooke, S. Radovick, Puberty and its disorders in the female, in *Pediatric Endocrinology: Fourth Edition*. 2014, Elsevier Inc. p. 569-663. e1.
108. Vurall, D., Santral puberte prekoks tanısında bazal lütenizan hormon düzeyinin yeterliliği. *Turkish Archives of Pediatrics*, 2020. 55(2).
109. Neely, E.K., Spontaneous serum gonadotropin concentrations in the evaluation of precocious puberty. *J Pediatr*, 1995. 127(1): p. 47-52.
110. Zhao, C., Y. Tang, L. Cheng, Diagnostic Value of LH Peak Value of the GnRH Stimulation Test for Girls with Precocious Puberty and Its Correlation with Body Mass Index. *Comput Math Methods Med*, 2022. 2022: p. 4118911.
111. Sultan, C., Clinical expression of precocious puberty in girls. *Endocr Dev*, 2012. 22: p. 84-100.
112. Berberoğlu, M., Precocious puberty and normal variant puberty: definition, etiology, diagnosis and current management. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*, 2009. 1(4): p. 164-74.
113. Castañeda, T.R., Ghrelin in the regulation of body weight and metabolism. *Front Neuroendocrinol*, 2010. 31(1): p. 44-60.
114. Lorenzi, T., Ghrelin: a metabolic signal affecting the reproductive system. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2009. 20(2): p. 137-52.

115. Aydin, S., Discovery of ghrelin hormone: research and clinical applications. *Turk J Biochem*, 2007. 32: p. 76-89.
116. Gutierrez, J.A., Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008. 105(17): p. 6320-6325.
117. Delporte, C., Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)*, 2013. 2013: p. 518909.
118. De Vriese, C., J. Perret, C. Delporte, Focus on the short- and long-term effects of ghrelin on energy homeostasis. *Nutrition*, 2010. 26(6): p. 579-84.
119. Yoshimoto, A., Plasma ghrelin and desacyl ghrelin concentrations in renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 2002. 13(11): p. 2748-52.
120. Cowley, M.A., The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*, 2003. 37(4): p. 649-61.
121. Rak-Mardyla, A., Ghrelin role in hypothalamus-pituitary-ovarian axis. *J Physiol Pharmacol*, 2013. 64(6): p. 695-704.
122. Van der Lely, A.J., Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev*, 2004. 25(3): p. 426-57.
123. Zigman, J.M., J.K. Elmquist, Minireview: From anorexia to obesity--the yin and yang of body weight control. *Endocrinology*, 2003. 144(9): p. 3749-56.
124. Roa, J., Metabolic control of puberty onset: new players, new mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*, 2010. 324(1-2): p. 87-94.
125. Sirotkin, A.V., Food restriction, ghrelin, its antagonist and obestatin control expression of ghrelin and its receptor in chicken hypothalamus and ovary. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2013. 164(1): p. 141-153.
126. Roa, J., Kisspeptins and the control of gonadotropin secretion in male and female rodents. *Peptides*, 2009. 30(1): p. 57-66.
127. Fang, F., Role of ghrelin on estrogen and progesterone secretion in the adult rat ovary during estrous cycle. *Syst Biol Reprod Med*, 2012. 58(2): p. 116-9.

128. Gil-Campos, M., Fasting and postprandial relationships among plasma leptin, ghrelin, and insulin in prepubertal obese children. *Clin Nutr*, 2010. 29(1): p. 54-9.
129. Zou, C.C., The change in ghrelin and obestatin levels in obese children after weight reduction. *Acta Paediatr*, 2009. 98(1): p. 159-65.
130. Lauwers, E., Obestatin does not activate orphan G protein-coupled receptor GPR39. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006. 351(1): p. 21-5.
131. Reinehr, T., G. de Sousa, C.L. Roth, Obestatin and ghrelin levels in obese children and adolescents before and after reduction of overweight. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2008. 68(2): p. 304-10.
132. Nogueiras, R., M. Tschöp, Biomedicine. Separation of conjoined hormones yields appetite rivals. *Science*, 2005. 310(5750): p. 985-6.
133. Nogueiras, R., Effects of obestatin on energy balance and growth hormone secretion in rodents. *Endocrinology*, 2007. 148(1): p. 21-6.
134. Seoane, L.M., Central obestatin administration does not modify either spontaneous or ghrelin-induced food intake in rats. *J Endocrinol Invest*, 2006. 29(8): p. Rc13-5.
135. Gourcerol, G., Preproghrelin-derived peptide, obestatin, fails to influence food intake in lean or obese rodents. *Obesity (Silver Spring)*, 2007. 15(11): p. 2643-52.
136. Zizzari, P., Obestatin partially affects ghrelin stimulation of food intake and growth hormone secretion in rodents. *Endocrinology*, 2007. 148(4): p. 1648-53.
137. Catalán, V., The obestatin receptor (GPR39) is expressed in human adipose tissue and is down-regulated in obesity-associated type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2007. 66(4): p. 598-601.
138. Lippl, F., Relation of plasma obestatin levels to bmi, gender, age and insulin. *Horm Metab Res*, 2008. 40(11): p. 806-12.
139. Golub, M.S., Public health implications of altered puberty timing. *Pediatrics*, 2008. 121 Suppl 3: p. S218-30.

140. Round, J.M., Hormonal factors in the development of differences in strength between boys and girls during adolescence: a longitudinal study. *Ann Hum Biol*, 1999. 26(1): p. 49-62.
141. Wang, L.-X., Association of body fat ratio with precocious puberty in girls. *Zhongguo Dang dai er ke za zhi= Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*, 2020. 22(7): p. 762-767.
142. Pagán, Y.L., Inverse relationship between luteinizing hormone and body mass index in polycystic ovarian syndrome: investigation of hypothalamic and pituitary contributions. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*, 2006. 91(4): p. 1309-1316.
143. Roth, L.W., Evidence of GnRH antagonist escape in obese women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2014. 99(5): p. E871-E875.
144. Vicennati, V., Circulating obestatin levels and the ghrelin/obestatin ratio in obese women. *Eur J Endocrinol*, 2007. 157(3): p. 295-301.
145. Foster, C.M., Ghrelin concentrations reflect body mass index rather than feeding status in obese girls. *Pediatr Res*, 2007. 62(6): p. 731-4.
146. Lebenthal, Y., Effect of sex hormone administration on circulating ghrelin levels in peripubertal children. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. 91(1): p. 328-31.
147. Aly, G.S., Ghrelin, obestatin and the ghrelin/obestatin ratio as potential mediators for food intake among obese children: a case control study. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2020. 33(2): p. 199-204.
148. Tolle, V., Ultradian rhythmicity of ghrelin secretion in relation with GH, feeding behavior, and sleep-wake patterns in rats. *Endocrinology*, 2002. 143(4): p. 1353-61.
149. Germain, N., Ghrelin/obestatin ratio in two populations with low bodyweight: constitutional thinness and anorexia nervosa. *Psychoneuroendocrinology*, 2009. 34(3): p. 413-9.
150. Wu, W., Alteration of ghrelin/obestatin ratio in adolescence with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol*, 2018. 34(1): p. 36-39.