ارزیابی جهش های ژن GPR54 در دختران ایرانی با بلوغ زودرس فامیلیال

دکتر نصرت قائمی[1*]،دکتر سمانه نوروزی اصل[2]، دکتر محمدرضا عباس زادگان[3]، مارتا قهرمان[4]، دکتر رحیم وکیلی[5]

۱. دانشیار و فوق تخصص غدد و متابولیسم کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. استادیار و فوق تخصص غدد و متابولیسم کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.
۳. دانشیار و فوق تخصص ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. کارشناس ارشد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۵. استاد و فوق تخصص غدد و متابولیسم کودکان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۳۰ **تاریخ پذیرش مقاله:** ۱۳۹۱/۸/۳۰

خلاصه

مقدمه: مسیر انتقال پیام GPR54/Kisspeptin به عنوان دروازه و تنظیم کننده فعالیت نورون های آزاد کننده گونادوتروپین و عامل کلیدی شروع بلوغ می باشد. جهش های از دست دهنده عملکرد در ژن گیرنده متصل شونده به پروتیین G) GPR54 با تأخیر بلوغ مرکزی و جهش های کسب کننده عملکرد این ژن با بلوغ زودرس مرکزی همراهی دارد. مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران و با هدف شناسایی جهش ها در بلوغ زودرس مرکزی به خصوص با موارد فامیلیال انجام شد.

روش‌کار: در این مطالعه آینده نگر که در سال ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد، ۲۲۵ کودک با بلوغ زودرس مراجعه کننده به درمانگاه غدد و متابولیسم کودکان بیمارستان امام رضا (ع) مورد ارزیابی بالینی و آزمایشگاهی قرار گرفتند و از بین آنها، ۲۵ کودک با بلوغ زودرس مرکزی که سابقه فامیلی بلوغ زودرس در بستگان درجه یک یا دو داشتند، انتخاب شدند. نمونه خون بیماران جهت ارزیابی گرفته شد و DNA استخراج شد و به کمک تکنیک واکنش زنجیره ای پولیمراز (PCR) تکثیر و تعیین توالی گردید و نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار سکوانچر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه، موتاسیونی در ژن GPR54 مشاهده نشد ولی سه نوع پلی مورفیسم مشخص شد: rs10407968(24A>G) در ۵۲٪ بیماران، rs3050132(1091T>A) در ۶۴٪ بیماران و پلی مورفیسم جدید 492C>G در یک بیمار مشاهده شد (۴٪).

نتیجه‌گیری: پلی مورفیسم ژن GPR54 در اکثر بیماران با بلوغ زودرس مرکزی وجود دارد.

کلمات کلیدی: بلوغ زودرس فامیلی، پلی مورفیسم، جهش ژنتیکی، ژن GPR54

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر نصرت قائمی؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. **تلفن:** ۰۵۱۱-۸۰۲۲۸۰۱؛ **پست الکترونیک:** ghaemiN@mums.ac.ir

مقدمه

بلوغ، پدیده بیولوژیکی پیچیده ای است که تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، تغذیه ای، محیطی و اقتصادی-اجتماعی قرار می گیرد. علت شروع بلوغ، فعال شدن محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و گوناد است که با ترشح ضربانی هورمن آزاد کننده گونادوتروپین (GnRH)[1] از هیپوتالاموس شروع شده و منجر به ترشح گونادوتروپین های FSH-LH از هیپوفیز می شود. تأثیر گونادوتروپین بر روی گونادها باعث افزایش ترشح استروژن از تخمدان و تستوسترون از بیضه ها می شود که باعث تغییرات ظاهری جنسی ثانویه، تغییرات فیزیکی جسمی و توانایی تولید مثل در فرد می شود. بلوغ زودرس به معنای ظهور صفات ثانویه جنسی قبل از ۸ سالگی در دختران و قبل از ۹ سالگی در پسران می باشد که تحت تأثیر عوامل مغزی (هیپوتالاموس-هیپوفیز) و محیطی (تخمدان یا بیضه ها، داروها) است. به بیان دیگر، بلوغ زودرس مرکزی (مغزی) وابسته به گونادوتریپن ها و بلوغ زودرس محیطی، غیر وابسته به گونادوتروپین ها است. بلوغ زودرس مرکزی در دخترها از شیوع بیشتری برخوردار است (۱) و در اکثر موارد، علتی برای شروع بلوغ مشخص نمی شود (ایدیوپاتیک)، در حالی که در پسران، اکثر موارد آن به دلیل مشکلات سیستم عصبی مرکزی می باشد. مشابه بودن سن اولین قاعدگی در بین افراد یک نژاد، مادر و دختر و دوقلوهای یک تخمکی، نشان دهنده تأثیر عوامل ژنتیکی بر روی بلوغ است (۲) و در مطالعات جدید، نقش عوامل ژنتیکی تأیید شده است. از جمله ژن Ki ss1 و رسپتور آن GPR54 که به عنوان عوامل تنظیم کننده و فعال کننده نرون های GnRH در هیپوتالاموس عمل می کنند (۳-۱۰). بنابراین، شناخت ژن های مسئول در فرایند بلوغ، در تشخیص و حتی درمان بلوغ زودرس می تواند کمک فراوانی کند.

روش کار

در این مطالعه آینده نگر که در سال ۸۹-۱۳۸۸ در کلینیک غدد و متابولیسم کودکان بیمارستان امام رضا (ع) انجام شد، ۲۲۵ کودک که به دلیل بلوغ زودرس مراجعه کرده بودند، مورد مطالعه بالینی، آزمایشگاهی و رادیولوژی قرار گرفتند و پس از تأیید بلوغ زودرس، سابقه خانوادگی آنها مورد بررسی قرار گرفت. در صورتی که در سابقه خانوادگی آنها و در فامیل درجه ۱ (خواهر، برادر، پدر و مادر) و درجه ۲ (خاله، عمه، دایی، عمو) موارد مشابه بلوغ زودرس وجود داشت، در صورت تمایل و اخذ رضایت نامه کتبی، وارد مطالعه شدند و نمونه خون جهت بررسی ژنتیکی گرفته شد.

معیارهای ورود به مطالعه (تأیید بلوغ زودرس) از نظر بالینی شامل: رشد پستان قبل از ۸ سالگی در دختران و بزرگ شدن بیضه قبل از ۹ سالگی در پسران بر اساس تقسیم بندی و طبقه بندی تانر[2] بود که معاینه توسط فوق تخصص غدد کودکان انجام گرفت، از نظر رادیولوژی، سن استخوانی تسریع یافته یا سن استخوانی بیشتر از ۱ سال بالای سن تقویمی بر اساس روش و متد و گرولیخ[3] و پایل[4] و همچنین یافته های سونوگرافی که در مورد دختران، افزایش قطر طولی رحم بیشتر از ۴۰ میلی متر و حجم بیشتر از ۳ سی سی و قطر تخمدان بیشتر از ۲۵ میلی متر و حجم بیشتر از ۱/۵ سی سی و در مورد پسران افزایش طول بیضه بیشتر از ۳۰ میلی متر و حجم بیشتر از ۳ سی سی بود که بررسی توسط یک رادیولوژیست انجام شد و معیار از نظر آزمایشگاهی، افزایش میزان گونادوتروپین ها بود، به عبارتی LH بیشتر از ۴/۵ میکرو واحد در میلی لیتر و FSH بیشتر از ۷ میکرو واحد در میلی لیتر و افزایش نسبت LH به FSH بیشتر از ۱ و همچنین افزایش میزان تستوسترون بالای ۳۰۰ نانوگرم در دسی لیتر در پسران و استرادیول بالای ۲۰ پیکوگرم در میلی لیتر در دختران بود و در صورتی که آزمایش هورمونی تأیید کننده نبود ولی سایر معیارها وجود داشت، تست تحریکی با آگونیست GnRH (۱۰۰

[1] Gonadotropin releasing hormone

[2] Tanner
[3] Greulich
[4] Pyle

میکروگرم زیر جلدی یا عضلانی) انجام شد که افزایش LH بیشتر از ۶/۹ میکرو واحد در میلی لیتر نیم ساعت و یک ساعت پس از تزریق، تأیید کننده بلوغ زودرس مرکزی بود.

در دختران با شروع بلوغ زودرس زیر ۶ سال، در تمام پسران با بلوغ زودرس مرکزی و در مواردی که علاوه بر علائم بلوغ زودرس، شواهدی به نفع بیماری یا ضایعات سیستم عصبی مرکزی وجود داشت، MRI مغز انجام شد و در صورت مشاهده یافته ای در MRI که توجیه کننده بلوغ زودرس بود، افراد از مطالعه خارج شدند. همچنین افراد مبتلا به ظهور زودرس جوانه پستانی و بلوغ زودرس محیطی یا مستقل از گونادوتروپین شامل هیپرپلازی مادرزای فوق کلیه، تومر یا کیست تخمدانی و هیپوتیروئیدی نیز از مطالعه خارج شدند. در نهایت، بیمارانی که بلوغ زودرس مرکزی ایدیوپاتیک در آنها تأیید شد، پرسشنامه ای را تکمیل کردند که در آن، سن بروز بلوغ و یا سن شروع قاعدگی در بستگان مؤنث درجه یک و دو و همچنین سن اولیه اصلاح کامل صورت در بستگان مذکر درجه یک یا دو درخواست شده بود.

در مواردی که بلوغ زودرس با معیارهای ذکر شده و بررسی های لازم تأیید و سابقه فامیلی نیز وجود داشت و قبلاً و یا به طور همزمان تحت درمان با آگونیست GnRH قرار داشتند، به عنوان بلوغ زودرس مرکزی ایدیوپاتیک فامیلی وارد مطالعه شده و پس از اخذ رضایت نامه کتبی، ۳ سی سی خون جهت استخراج DNA و شناسایی موتاسیون ژن GPR54 گرفته شد.

روش استخراج DNA: DNA ژنومیک طبق پروتکل استاندارد غیر آنزیمی[1] از خون محیطی بیماران استخراج شد و تمام ۵ اگزون ژن GPR54 با استفاده از ۵ جفت پرایمر اختصاصی به کمک تکنیک PCR، تکثیر شد و سپس قطعات حاصل از تکثیر بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز و جهت شناسایی موتاسیون، تلخیص[2] و تعیین توالی[3] شدند. نتایج حاصل از تعیین توالی[4] با استفاده از نرم افزار سکوانچر[5] و از طریق مقایسه با توالی موجود در بانک اطلاعات ژن که به صورت on line در دسترس است، مورد آنالیز قرار گرفت.

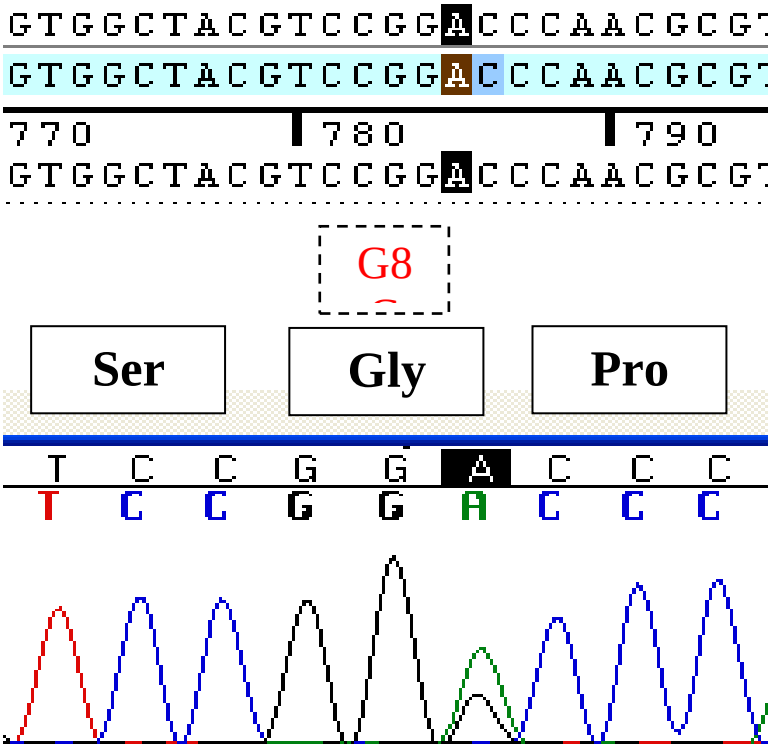
یافته ها

در این مطالعه با بررسی های انجام شده، بلوغ زودرس در ۲۲۵ کودک تأیید شد که در ۲۵ مورد، سابقه فامیلی نیز مثبت بود. ۲۳ نفر (۹۴٪) از بیماران با بلوغ زودرس فامیلی، دختر و بقیه پسر (۶٪) بودند. متوسط سن بیماران در زمان تشخیص ۱/۲± ۵/۷۵ سال بود. ۲ نفر از بیماران دو قلو بودند و در ۲ دختر، اولین قاعدگی در سن ۵ و ۷ سالگی ظاهر شده بود. اکثر بیماران (۲۱ مورد) سابقه بلوغ زودرس در خانواده داشتند و در ۴ مورد، سابقه بلوغ زودرس در خاله یا عمه ذکر شد. قد و وزن بیماران در زمان تشخیص، بالای صدک ۷۵ برای سن بود. سن استخوانی در تمام بیماران تسریع شده بود و میانگین سن استخوانی ۱/۵ ± ۷/۲ سال بود. در معاینه بالینی تمام دختران، رشد پستان و رویش موهای زهار در مرحله تانر ۲ تا ۳ و در پسران نیز رشد بیضه ها و موهای زهار در مرحله تانر ۲ تا ۳ بود. متوسط میزان LH و FLH به ترتیب ۱/۳ ± ۶ میکرو واحد در میلی لیتر و ۲/۲ ± ۹/۵ میکرو واحد در میلی لیتر، تستوسترون ۴۰± ۳۵۰ نانوگرم در دسی لیتر و استرادیول ۱۵/۵±۳۸ پیکوگرم در میلی لیتر بود. در ۲ بیمار تست تحریکی با GnRH نیز انجام شد که پس از انجام تست، سطح گونادوتروپین ها افزایش داشت. یافته های سونوگرافی در تمام بیماران با معیارهای ذکر شده قبلی از نظر بلوغ مطابقت داشت و تأیید کننده شروع بلوغ بود.

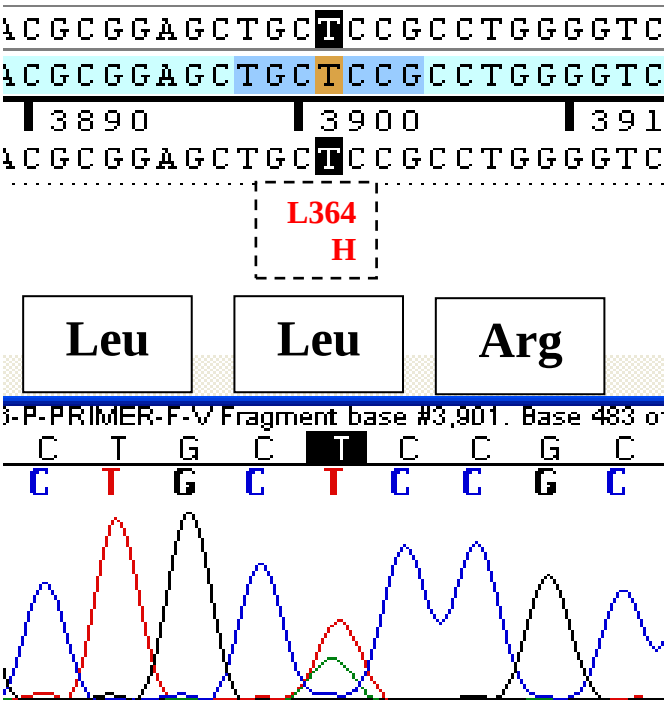
نتایج ژنتیکی: در این مطالعه، موتاسیونی در ژن GPR54 مشاهده نشد ولی سه نوع پلی مورفیسم SNP (Polymorphism Single-nucleotide) مشاهده شد که انواع پولی مورفیسم مشاهده شده شامل: rs10407968(24A>Gc.) در ۵۲٪ و rs3050132 (Cc.1091T>A) در ۶۴٪ و پولی مورفیسم جدید (c. 492C> G) در یک بیمار (۴٪) بود. به طور کلی در ۲۲ بیمار (۸۸٪) پلی مورفیسم مشاهده شد و در ۸ بیمار، ۲ نوع پلی مورفیسم مشاهده شد و

[1] Salting out
[2] Purification
[3] Sequencing
[4] Sequencing
[5] Sequencher

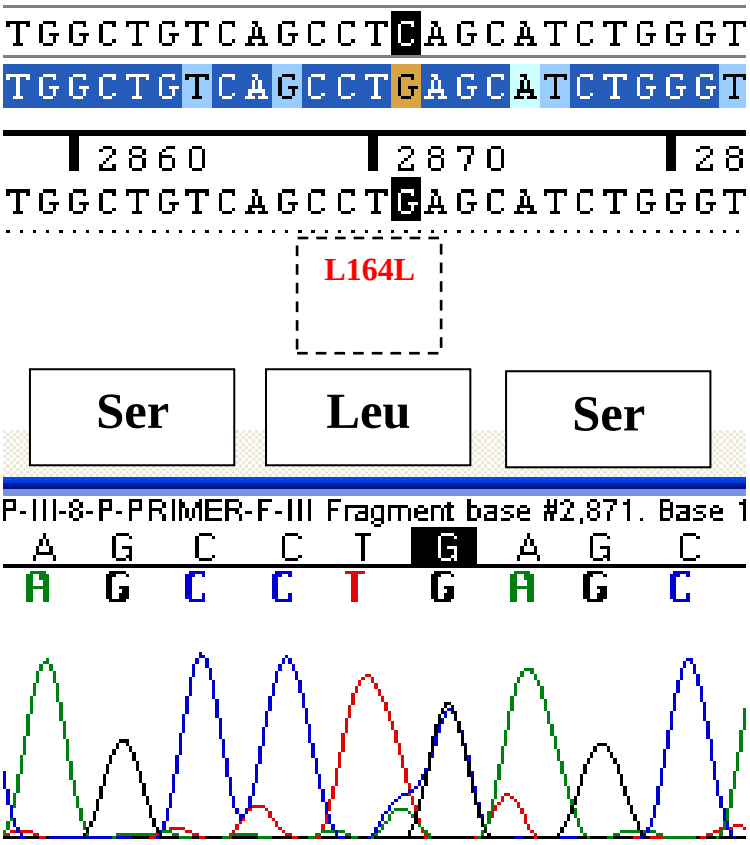
در ۳ بیمار (۱۲٪) هیچ پلی مورفیسمی مشاهده نشد (شکل ۱، ۲، ۳ و جدول ۱).



شکل ۱- rs 10407968(c.24A>G; pG8G)



شکل ۲- rs 3050132 (c.1091T>A; p.L364H)



شکل ۳- بیمار دارای پلی مورفیسم جدید c.492C>G; p.L164L

جدول ۱- سه پلی مورفیسم مشخص شده در مطالعه

Allele	Location	DpSNP ID	Note
A> G	Exon1	rs 10407968	Silent variation
T> A	Exon5	rs 3050132	Silent variation
C> G	Exon2		Novel Silent variation

بحث

بلوغ زودرس مرکزی (وابسته به گونادوتروپین) به علت تکامل زودرس محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و گوناد است و شبیه بلوغ طبیعی است که در سن پائین تری شروع می شود. اگرچه این کودکان در مراحلی از زندگی نسبت به همسالان خود قد بلندتر هستند، ولی بلوغ زودرس در نهایت با کوتاه قدی و بروز مشکلات احساسی - عاطفی و بیماری های جدی در سنین بالا از جمله سرطان پستان یا تخمدان همراه است (۱۱). این اختلال در دختران، ۱۰ برابر شایع تر از پسران است و در بیشتر موارد در دختران ایدیوپاتیک است و علت خاصی را برای آن نمی توان ذکر کرد (۱۲). در حالی که در پسران در بیشتر موارد (۷۵-۵۰٪) با مشکلات سیستم عصبی مرکزی همراه است (۱۳). مشابه بودن سن شروع بلوغ، سن اولین قاعدگی افراد مؤنث و سن رویش موهای صورت افراد مذکر در بین افراد یک نژاد (مادر و دختر، پدر و پسر، دو قلوهای یک تخمکی) نشان دهنده این است که سن بروز بلوغ، به وسیله عوامل ژنتیکی تنظیم و کنترل می شود (۲، ۱۳). مطالعات در زمینه شناسایی ژن های دخیل در بروز فرآیند بلوغ منجر به شناسایی پپتید کیس یک[1]

[1] ۱ KISS

رسپتور آن GPR54 شد که به عنوان عوامل تنظیم فعال شدن نرون های GnRH در هیپوتالاموس عمل کرده، به عبارتی تنظیم کننده زمان شروع بلوغ هستند (۳-۵). در مطالعات انجام شده، مشخص شد که جهش های از دست دهنده عملکرد ژن GPR54 منجر به هیپوگونادیسم هیپوگونادوتروپیک می شود (۶، ۷، ۱۴-۱۶) و جهش های کسب کننده فعالیت این ژن با بلوغ زودرس مرکزی همراه است (۴، ۱۷-۲۱). در برخی مطالعات انجام شده، شیوع بلوغ زودرس فامیلی ۲۷/۵٪ ذکر شده است و حتی برخی مطالعات طرح توارث آن را اتوزومال غالب وابسته به جنس می دانند (۱).

در ایران با توجه به شیوع بالای ازدواج های فامیلی و موارد متعدد بلوغ زودرس در بین افراد خانواده، این فرضیه مطرح است که احتمالاً انتقال جهش های ژن GPR54 عامل بروز بلوغ زودرس فامیلی باشد.

ژن GPR54 انسانی که hoT7T 175,AXOR 12 KISS-R, نیز نامیده می شود، عضوی از خانواده رودوپسین[1] از رسپتورهای جفت شونده با G پروتئین می باشد (۲۲). یک لیگاند طبیعی برای Gپروتیین جفت شونده با رسپتور[2] توسط ژن Kiss-1 (lq 32) کد می شود که پس از تحمل چندین پردازش پپتید فعال بیولوژیکی به نام متاستین[3] ایجاد می شود و ناحیه C ترمینال متاستین مسئول اتصال به رسپتور GPR54 می باشد. ژن GPR54 حاوی ۵ اگزون است که روی کروموزوم P13.3 19 قرار دارد و ناحیه کد کننده کامل ژن 7bp 119 است که پروتئینی با ۳۹۸ اسید آمینه را کد می کند (۱۴، ۲۳). در مطالعه تلس و همکاران (۲۰۰۸) جایگزینی اسید آمینه پرولین با آرژنین در کدون ۳۸۶ در یک دختر خوانده با بلوغ زودرس مرکزی که منجر به جهش ژنتیکی شده بود، مشاهده شد (Arg386 Pro) (۲۴).

البته اکثر مطالعات، روی موارد تأخیر بلوغ مرکزی انجام شده و نتایج متعددی را نشان داده اند، از جمله در مطالعه روکس و همکاران (۲۰۰۳)، حذف هموزیگوت در نوکلئوتید ۱۵۵ ژن GPR54 در ۵ نفر از افراد یک خانواده بزرگ مشاهده شد که در افراد سالم آن خانواده که بررسی شده بودند، وجود نداشت (۲۵). همچنین در مطالعه سمینارا و همکاران (۲۰۰۳)، در افراد دچار تأخیر بلوغ مرکزی یک فامیل، موتاسیون هموزیگوت C148S در ژن GPR54 مشاهده شد (۱۴). مطالعات تجربی که روی حیواناتی مانند موش، خرگوش و میمون نیز انجام شده اند، تأیید کننده این مسئله است (۲۲، ۲۶-۲۸). از طرفی تجویز طولانی مدت پپتید Kiss 1 در خرگوش های نابالغ ماده، منجر به شروع بلوغ وابسته به گونادوتروپین می شود (۲۶). با توجه به مطرح شدن موتاسیون های ژن GPR54 در موارد بلوغ زودرس مرکزی، مطالعه حاضر با هدف بررسی جهش های این ژن در موارد بلوغ زودرس مرکزی فامیلی انجام شد. در مطالعه حاضر نیز که برای اولین بار در بین کودکان ایرانی با بلوغ زودرس فامیلی انجام شد، جهش ژنتیکی مشاهده نشد ولی سه نوع پلی مورفیسم مشاهده شد که شامل (rs 10407 968 24) A>G در ۵۲٪، (109T>A) rs3050 132 در ۶۴٪ و پلی مورفیسم جدید (Novel) G492 C> در یک نفر (۴٪) بود.

پلی مورفیسم (24 A>T) 10407968 و (109 T> A) 3050132 که در این مطالعه مشاهده شد، پلی مورفیسم های شناخته شده ای هستند که در سایر مطالعات انجام شده نیز مشاهده شد (۲۹) ولی 492C>G پلی مورفیسم جدیدی است که در مطالعات دیگر مشاهده نشده است.

مطالعه کو و همکاران که بر روی ۱۰۱ دختر کره ای با بلوغ زودرس مرکزی انجام شد، چهار نوع پلی مورفیسم را در ژن Kiss1 نشان داد که ۲ تا از آنها جدید بودند ولی با تغییر اسید آمینه همراه نبود (۲، ۳۰). تفاوت مطالعه حاضر با مطالعه کو در ارتباط با زمینه فامیلی بود که در بیماران آنها، ارتباط فامیلی مد نظر نبود. همچنین در مطالعه لوآن و همکاران (۲۰۰۷) که بر روی کودکان چینی انجام شد، علی رغم تعداد زیاد بیماران و مشاهده ۸ نوع پلی مورفیسم، فقط یک مورد جدیدگزارش شد (۳۰) در حالی که در مطالعه حاضر با وجود اینکه تعداد بیماران ۲۵ نفر بودند، ۸۸٪ دچار پلی

[1] rhodopsin
[2] G- protein coupled receptor 54
[3] metastin

مورفیسم بودند که نسبت به سایر مطالعات بیشتر است. این سؤال مطرح می شود که آیا وقتی زمینه فامیلی نیز وجود داشته باشد، پلی مورفیسم هم شایع تر است؟ همچنین در این مطالعه نسبت به سایر مطالعات، شیوع جدید بیشتر بود (۲۵٪). نکته مهم دیگر این است که در مطالعه حاضر، یک سوم بیماران (۳۰٪) دو نوع پلی مورفیسم داشتند که این مورد در سایر مطالعاتی که تاکنون انجام شده، مشاهده نشد. اگر چه پلی مورفیسم آسیبی از نوع جهش های خنثی محسوب می شود ولی شیوع بالای آن در مطالعه حاضر (بلوغ زودرس فامیلیال) این احتمال را مطرح می کند که این جهش خنثی را هم باید با اهمیت دانست و مطالعات بیشتری لازم است. به خصوص بررسی در افراد سالم جامعه و مقایسه آن با افراد دچار بلوغ زودرس و بلوغ زودرس فامیلیال اهمیت دارد. از طرفی مطالعه حاضر، اولین مطالعه ای است که در مورد بلوغ زودرس مرکزی فامیلیال انجام شد و در سایر مطالعات انجام شده، بررسی فامیلیال نبود. همچنین مطالعه حاضر اولین مطالعه ای است که در ایران در مورد بلوغ زودرس مرکزی انجام شد.

نتیجه گیری

در کودکان با بلوغ زودرس مرکزی فامیلی جهش ژنتیکی در ژن GPR54 یافت نشد و لیکن درصد بالایی از بیماران پلی مورفیسم مشاهده شد که به نظر می رسد با زمینه ازدواج فامیلی رابطه دارد و نیاز به مطالعه بیشتر با تعداد بیماران بیشتر و مقایسه با افراد سالم جامعه دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان نامه دکترای فوق تخصصی دانشگاه علوم پزشکی مشهد می باشد، بدینوسیله از همکاری اساتید محترم، معاونت محترم پژوهشی دانشگاه و بیماران شرکت کننده در این مطالعه که با ما همکاری کردند، تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. de Vries L, Kauschansky A, Shohat M, Phillip M. Familial central precocious puberty suggests autosomal dominant in heritance. J Clin Endocrinol Metab 2004 Apr;89(4):1794-800.
2. Ko JM, Lee HS, Hwang JS. KISS1 gene analysis in Korean girls with central precocious puberty: a polymorphism, p.P110T, suggested to exert a protective effect. Endocr J 2010;57(8):701-9.
3. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuobung W, Xu S, et al. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. N Engl J Med 2008 Feb 14;358(7):709-15.
4. Silveira LG, Noel SD, Silveira-Neto AP, Abreu AP, Brito VN, Santos MG, et al. Mutations of the KISS1 gene in disorders of puberty. J Clin Endocrinol Metab 2010 May;95(5):2276-80.
5. Feng T, Zhao YZ, Chu MX, Zhang YJ, Fang L, Di R, et al. Association between sexual precocity and alleles of KISS-1 and GPR54 genes in goats. Anim Biotechnol 2009;20(3):172-6.
6. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KISS1-derived peptide receptor GPR54. Proc Natl Acad Sci USA 2003 Sep 16;100(19):10972-6.
7. Semple RK, Achermann JC, Ellery J, Farooqi IS, Karet FE, Stanhope RG, et al. Two novel missense mutation in g protein-coupled receptor 54 in a patients with hypogonado tropic hypogonadism. J Clin Endocrinol Metab 2005 Mar;90(3):1849-55.
8. Irwig MS, Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Popo SM, Cunningham MJ, et al. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KISS-1 mRNA in the male rat. Neuroendocrinology 2004;80(4):264-72.
9. de Vries L, Shtaif M, Philip M, Gat-Yablonski G. Kisspeptin serum levels in girls with central precocious puberty. Clin Endocrinol (Oxf) 2009 Oct;71(4)524-8.
10. Seminara SB, Crowley WF Jr. Kisspeptin and GPR54: discovery of a novel pathway in reproduction. J Neuroendocrinol 2008 Jun;20(6):727-31.
11. Luan X, Yu H, Wei X, Zhou Y, Wang W, Li P, Gan X, Wei D, Xio J. GPR54 polymorphism in Chinese girls with central precocious puberty. Neuroendocrinology 2007;86(2):77-83.
12. Kakarla N, Bradshaw KD. Disorders of pubertal development precocious pubenty. Semin Reprod Med 2003 Nov;21(4):339-51.
13. Garibaldi L. Disordors of puberty. In: Kliegman RM, Behrman RE, Genson HB, Stanton BF. Nelson textbook of pediatric. 18th ed. Philadelphia:Saunders;2007;2309-16.

14. Seminara SB, Massager JS, Emmanouella E, Chatzidaki EE, Rosemary R, TheresherJS, et al. The GPR54 gene as regulator of puberty. N Engl Med 2003;349:1614-27.
15. Tenebaum-Rakover Y, Commenges-Ducos M, Iovane A, Aumas C, Admoni O, de Roux N. Neroendocrine phenotype analysis in five patients with isolated hypogonadotropic hypogonadism due to a L102P inactivating mutation of GPR54. J Clin Endocrinol Metab 2007 Mar;92(3):1137-44.
16. Teles MG, Trabach EB, Noel SD, Guerra-Junior G, Jorge A, Beneduzzi D, et al. A novel homozygous splices acceptor site mutation of KISS1R in two siblings with normosmic isolated hypogonadotropic hypogonadism. Eur J Endocrinol 2010 Jul;153(6):845-52.
17. Silveira LF, Trarbch EB, Latronico AC. Genetic basis for GnRH dependent pubertal disorders in humans. Mol Cell Endecrinol 2010 Aug 5;234(1-2):30-8.
18. Chan YM, de Guillebon A, Lang-Munitano M, Plummer L, Cerrato F, Tsiaras S, et al. GNRH1 mutations in patients with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. Proc Nalt Acad Sci U S A 2009 Jul 14;106(28):11703-8.
19. Bouligand J, Ghervan C, Tello JA, Brailly-Tabard S, Salenare S, Chanson P, et al. Isolated familial hypogonadotropic hypogonadism and a GNRH1 mutation. N Engl J Med 2009 Jun 25;360(26):274-8.
20. Zhang C, Roepke TA, Kelly MJ, Ronnekleiv OK. Kisspeptin depolarizes gonadotropin-releasing hormone neurons through activation of TRPC-like cationic channels. J Neurosci 2008 Apr 23;28(17):4423-34.
21. Lanfranco F, Gromoll J, von Eckardstein S, Herding EM, Nieschlag E, Simoni M. Role of sequence variations of the GnRH receptor and G protein-coupled receptor 54 gene in male idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. Eur J Endocrinol 2005 Dec;153(6):845-52.
22. Colldge WH. GPR54 and puberty. Trends Endocrinol Metab 2004 Nov;15(9):448-53.
23. Muir AL, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich DJ, Moore DJ, Calamari A, et al. AXOR12,a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KISS-1. J Biol Chem 2001 Aug 3;276(31):28969-75.
24. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, et al. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. N Eengl Med 2008 Feb 14;358(7):709-15.
25. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain J, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due loss of function of KISS1-drived peptide receptor GPR54. 2003 Sep 16;100(19):10972-6.
26. Navarro VM, Ferandez-Fernandez R, Castellano JM, Roa J, Mayen A, Barreiro ML, et al. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by KISS-1 peptid, the endogenous ligand of GPR54. J Physiol 2004 Dec 1;561(2):379-86.
27. Keen KL, Wegner FH, Bloom SR, Ghtei MA, Terasawa E.n An increase in Kisspeptin-54 release occurs with the pubertal increase in luteinizing hormone-releasing hormone-1 release in the stalk-median emimence of female rhesus monkeys in vivo. Endocrinology 2008 Aug:149(8):4151-57.
28. Filby AL, van Aerle R, Duitman J, Tyler CR. The kisspeptin/gonadotropin-releasing hormone pathway and molecular signaling of puberty in fish. Biol Reprod 2008 Feb;78(2):278-89.
29. Tena-Sempere M. GPR54 and kisspeptin in reproduction. Hum Reprod Update 2006 Sep-Oct;12(5):631-9.
30. Luan X, Zhou Y, Wang W, Yu H, Li P, Gan X, et al. Association study of the polymorphisms in the KISS1 gene with central precocious puberty in Chinese girls. Eur J Endocrinol 2007 Jul;157(1):113-8.
31. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, et al. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. N Eengl J Med 2008 Feb 14;358(7):709-15.