



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA DR. ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
BAŞHEKİM: Prof. Dr. Yaprak ÜSTÜN

PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİĞİ OLAN HASTALARDA
İNFLAMASYON BELİRTECİ OLAN SERUM ENDOKAN
DÜZEYLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

Dr. Melike GÜLER
UZMANLIK TEZİ



T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ANKARA DR. ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI
EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
BAŞHEKİM: Prof. Dr. Yaprak ÜSTÜN

PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİĞİ OLAN HASTALARDA
İNFLAMASYON BELİRTECİ OLAN SERUM ENDOKAN
DÜZEYLERİNİN TESPİT EDİLMESİ

Dr. Melike GÜLER
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Nafiye YILMAZ

ANKARA/2019

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMALAR	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
3. MATERYAL ve METOD.....	34
4. BULGULAR.....	37
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ	50
7. KAYNAKÇA.....	51
8. EKLER.....	63

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimi aldığım Ankara Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde daha iyi bir eğitim almamız için uğraşan, daha ilerisini hedeflememiz için bizi yüreklendiren, zorluklardan yılmamamız gerektiğini öğütleyen, çalışma ortamımızı daha iyi hale getirmek için her daim bizleri dinleyip çözüm yolları arayan hastane yöneticisi sayın Prof. Dr.Yaprak ÜSTÜN'e,

Başta akademik hayatı olmak üzere cerrahi bilgi ve becerisi dahil her konuda örnek aldığım, bilgisini ve deneyimini sabır ve mutlulukla paylaşan, tezimin her aşamasında yanımda olan tez hocam sayın Prof. Dr. Nafiye YILMAZ'a,

Tüm eğitim görevlisi hocalarıma, uzman ağabey ve ablalarım,

Tüm asistanlık sürecim boyunca örnek aldığım, bizlere elinden gelenin fazlasıyla yardım eden, tezimin en zor kısmında yardım elini uzatan abim Doç.Dr.Mahmut Kuntay KOKANALI'ya

Asistanlığa başladığım ilk günden itibaren birlik ve beraberliğimizi bozmadan, her türlü mutluluk ve sıkıntıyı paylaştığımız ve paylaşacağımız başta iyi ki karşılaştım dediğim canım eşkıdemlilerim olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Tezimin en zorlu kısımlarında yardımlarını esirgemeyen Dr. Sinem ELDEM'e, Dr. Ali Onur ARZİK'a, Dr. Berat ERALP'e ve Dr. Didem KAYMAK'a,

Hayatımın her anında yanımda olan bana sonsuz desteklerini esirgemeyen, eğitim hayatım boyunca hep daha iyisi için beni yüreklendiren, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan annem, doktorluk mesleğini seçmem için bana örnek olan babam ve birtanecik kardeşime,

ve her konuda 'iyi ki' dediğim hayatta ki en büyük destekçim, şansım, beni her durumda ve her an mutlu edebilen, bugün bulunduğum yere gelmemde en çok emeği ve desteği olan, beni ben yapan, tamamlayan hayat arkadaşım Dr.Ferhan GÜLER'e ve bu süreçte bana en çok sabır gösteren, en kıymetlim, hiç bitmeyecek güce sahip olduğumu düşünmemi sağlayan mutluluk kaynağım biricik oğlum Ferhan Alaz GÜLER'e yanımda oldukları ve hep olacakları için sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Melike GÜLER

KISALTMALAR

β-HCG	: Human Koryonik Gonadotropin Beta
ACOG	: American College of Obstetricians and Gynaecologists
AMH	: Anti-müllerian Hormon
BMI	: Body Mass Index
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ESHRE	: European Society of Human Reproduction and Embryology
ESM-1	: Endotel Spesifik Molekül-1
FMR	: Fragile Side Mental Retardaiton 1
FMRP	: Frajil X Mental Retardasyon Protein
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
IVF	: İn-vitro Fertilizasyon
KMD	: Kemik Mineral Dansitesi
LH	: Luteinizan Hormon
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
POF	: Premature Ovarian Failure
POY	: Prematür Ovaryan Yetmezlik/ Primer Ovaryan Yetersizlik
PRL	: Prolaktin
SD	: Standart Derivasyon
SPSS	: Statistical Package for Social Sciences
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 1. Prematür Ovaryan Yetmezlik Nedenleri	9
Tablo 2. Prematür Ovaryan Yetmezlik ile İlişkili Sendromlar	21
Tablo 3. Klinik Durum ile FSH ve LH Seviyelerinin İlişkisi	24
Tablo 4. Primer Ovaryan Yetmezlik Spektrumunun Klinik Özellikleri	24
Tablo 5. Çalışmaya Dahil Edilen Grupların Demografik Özellikleri	37
Tablo 6. Çalışma Gruplarının FSH, LH, AMH ve Östradiol Seviyelerinin Karşılaştırması	38
Tablo 7. Çalışma Gruplarının Serum Endokan Seviyelerinin Karşılaştırması	39
Tablo 8. Serum Endokan Seviyesi ile Sigara Kullanımı Arasındaki İlişkinin Analizi.....	40
Tablo 9. Prematür Ovaryan Yetmezlik Görülen Olguların FMR1 Premutasyon Varlığına Göre Dağılımı	41
Tablo 10. Çalışma Grubunda Serum Endokan Seviyesi ile Yaş, VKİ, AMH ve Bazal Hormonlar (FSH,LH ve Östradiol) Arasındaki Korelasyon Analizi.....	42
Tablo 11. Serum Endokan Seviyesi ile FSH ve AMH Korelasyonu	42
Tablo 12. Serum Endokan Seviyesinin POY Varlığını Öngörmedeki ROC Analizi Sonuçları	44

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Anovulatuvar Hastaya Yaklaşım Algoritması.....	23
Şekil 2. POY Grubunda Menstrüel Düzensizlik (Oligomenore-Amenore) Yüzdeleri.....	38
Şekil 3. Çalışma Grupları Arasında Serum Endokan Seviyelerinin Karşılaştırılması	40
Şekil 4. ROC Analiz Eğrisi.....	43



ÖZET

AMAÇ: Bu çalışmanın amacı inflamasyon belirteci olan endokan (ESM-1) seviyelerinin etiyojisi belli olmayan prematür ovaryan yetmezlik vakalarında tespit edilerek; hastalığın etiyojisinde rol oynadığı düşünülen inflamatuvar süreç ile olan ilişkisinin ortaya konmasıdır.

MATERYAL VE METOD: Çalışmamız 2018 Temmuz – 2018 Kasım tarihleri arasında prospektif vaka kontrollü çalışma olarak planlandı. Çalışmamıza bu tarihler arasında Ankara Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Planlaması ve Reprodüktif Endokrinoloji Kliniği'ne başvuran 68 hasta dahil edildi. Araştırmaya dahil edilen 68 olgunun 34'ü 46,XX spontan karyotipe sahip prematür ovaryan yetmezlik (POY) tanısına sahip popülasyondan seçildi. Kontrol grubu ise 34 sağlıklı birey seçilerek oluşturuldu. Çalışmaya dahil edilen hastaların yazılı onamları alındı. Amenoreik olan hastalardan herhangi bir zamanda, menstrüel siklus gören hastalardan ise menstrüel siklusun ilk 3 günü içerisinde ovulatuvar fonksiyonları değerlendirmek için kan örneği alındı. Alınan örnekler santrifüj edilip elde edilen serumlar dondurularak saklandı. Numuneler ELISA kit yöntemiyle çalışıldı. Gruplar arasındaki tüm veriler SPSS 22 (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanılarak istatistiksel analiz yapıldı.

BULGULAR: Araştırmaya dahil edilen prematür ovaryan yetmezlik görülen hastalar ile sağlıklı gönüllüler yaş, vücut kitle indeksi (VKİ) ve sigara kullanımı açısından kontrol grubu ile benzerdi ($p>0,05$). Araştırmaya dahil edilen hastalarda POY grubunda serum endokan seviyesi ortanca değeri 114,94 (20,11-381,55) pg/mL iken, kontrol grubunda ortanca değer 97,22 (19,75-152,16) pg/mL olarak saptandı. POY grubunda serum endokan seviyeleri istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek saptandı ($p=0,04$). Serum endokan seviyeleri ile yaş, sigara kullanımı, VKİ, LH ve östradiol seviyeleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı. Serum endokan seviyeleri ile FSH arasında pozitif yönlü, AMH arasında ise negatif yönlü korelasyon saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($r=0,325$, $r=-0,393$, $p=0,007$, $p=0,022$). POY tanısı için prediktif endokan seviyesini bulmak amacı ile ROC analizi uygulandı, cut off serum endokan seviyesi 124,34 pg/mL olarak saptandı. ROC

analizine göre serum endokan seviyesi POY varlığını öngörmeye istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,04$).

SONUÇ: Çalışmamız sonucunda prematür ovaryan yetmezliği olan kadınlarda serum endokan düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Serum endokan seviyelerinin FSH ve AMH ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır. POY grubunda endokan seviyelerinin yüksek olması nedeni ile hastalığın etiyolojisinde inflamatuvar süreçlerin etkili olabileceği düşünülmektedir. POY etiyolojisinde inflamatuvar süreçlerin mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi ve endokanın POY tanısında bir belirteç olup olamayacağı ilerde planlanan daha geniş vaka serili çalışmalar ile açığa kavuşturulabilir.

Anahtar Kelimeler: prematür ovaryan yetmezlik, primer ovaryan yetersizlik, erken menapoz, endokan, vasküler inflamasyon

ABSTRACT

OBJECTIVE: The aim of this study is to be establish endocan (ESM-1) which is an inflammation marker levels in idiopathic premature ovarian failure cases and reveal the relation between endocan and inflammatory process that is regarded as playing a role in etiology of this disease.

MATERIALS AND METHODS: Our study was planned as a prospective case-control study between the dates July, 2018 – November, 2018. 68 patients who made an application to Ankara Dr. Zekai Tahir Burak Women's Health Training and Research Hospital Family Planning and Reproductive Endocrinology Clinic between these dates were included study. 34 of 68 patients were chosen from the population diagnosed as premature ovarian failure (POF) with 46,XX spontaneous karyotype. Control group was constituted with 34 healthy individuals. Informed consent in written received from the patients included the study. Blood samples for considering ovulatory functions was taken anytime from the patients who amenorrheic and in first three days of cycle from who have menstrual cycle. Blood samples centrifuged and acquired blood serums cryopreserved. Specimens were studied with ELISA method. Statistical analysis was performed using SPSS 22 (Statistical Package for Social Sciences) program. .

RESULTS: Patients with premature ovarian failure and healthy volunteers have similar ages, body mass index (BMI), smoking rates to control group ($p>0,05$). Median endocan level in serum were found respectively 114,94 pg/ml (20,11-381,55) and 97,22 (19,75-152,16) in POF and control group. In POF group, endocan levels in serum was higher than control group and this difference is statistically significant ($p=0,04$). Endocan levels did not correlated with age, smoking, BMI, LH or estradiol parameters. A positive correlation between FSH and endocan levels at the same time a negative correlation between AMH and endocan levels were detected. These correlations was statistically significant ($r=0,325$, $r=-0,393$, $p=0,007$, $p=0,022$). ROC analyze was used to find out the predictive endocan level and cut off value of endocan level in serum was determined as 124,34 pg/ml. Endocan level was statistically significant for predicting existence of POF according to ROC analyze. ($p=0,04$).

CONCLUSION: In our study, endocan levels are significantly higher in women with POF compared with control group. A correlation was detected between Endocan levels and FSH, AMH. High endocan levels in POF group suggests inflammatory processes can be effective in etiology of disease. To understand mechanisms of these processes and whether endocan is suitable marker for diagnosis of POF or not can make evident with future researches which have larger case series.

Keywords: premature ovarian failure, primary ovarian insufficiency, endocan, premature menopause, vascular inflammation



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Prematür ovaryan yetmezlik (POY) ilk olarak 1930 yılında adet gecikmesi ve üriner gonadotropin seviyelerinde meydana gelen artış olarak ifade edilmiştir (1). POY 40 yaşından önce menstürasyonun kesilmesi ile birlikte görülen ovaryan folikül kaybı veya disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır (2). Hastalığı tanımlamak için; erken menapoz, hipergonadotropik amenore, hipergonadotropik hipogonadizm veya erken over yetmezliği gibi terimler kullanılmaktadır. Güncel literatürde kullanılan bu terimlerin uzun ve değişken klinik forma sahip hastalığı tanımlamak için yetersiz olduğu, hastalığın karakterini tam olarak ifade edemediği belirtilmektedir. Hastalığı tanımlamak için yeni bir arayış içine girilmiş ve primer ovaryan yetersizlik tanımı ilk olarak Fuller Albright tarafından 1942’de tanımlanmıştır (3). Primer ovaryan yetersizlik tanımlamasının kullanımı hastalığın karakterini daha iyi yansıtmakta ve hastalara tanıdan sonra ovaryan fonksiyonun devam edeceğini belirtmektedir (4).

POY tanı kriterleri konusunda günümüzde net bir fikir birliği yoktur. POY; 40 yaş öncesi kadınlarda görülen menstrüel düzensizlik öyküsü (oligomenore veya amenore), artmış gonadotropin ve azalmış östrojen seviyeleri ile karakterizedir (5). Tanı kriterleri için en güncel öneri ardışık 4 siklus oligomenore veya amenore varlığı ile 1 ay ara ile ölçülen FSH seviyelerinin > 20 IU/L olması olarak belirlenmiştir (5, 6). POY 40 yaş altındaki kadınların %1-2’ sini, 30 yaş altındakilerin ise % 0,1’ini etkilemektedir (7).

POY nedenleri ve fenotipi bakımından çok değişkenlik gösteren heterojen bir patolojidir. Hastalığın patogenezinde öne sürülen temel mekanizmalar; folikül disfonksiyonu ve foliküler atrezi olarak belirlenmiştir (8). İn utero başlangıç folikül havuzunun yetersiz olması, hızlanmış foliküler atrezi veya otoimmün toksik nedenler ile folikül fonksiyon kaybı hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (4, 8). Literatürde POY etyolojisini primer ve sekonder olarak ikiye ayıran yayınlar bulunmaktadır (9). Primer POY genellikle spontan olarak ortaya çıkmakta, olguların %10-15’inde aile öyküsü saptanmaktadır (8). Hastalığın etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamakla birlikte immünolojik-inflamatuvar, genetik, metabolik, çevresel faktörler ve enfeksiyonun rol oynadığı düşünülmektedir. Sekonder POY malignensi

nedeni ile yapılan operasyonlar, tedavi amacı ile verilen kemoterapi veya radyoterapi sonrasında ortaya çıkmaktadır (10).

POY devam eden ovaryan fonksiyon bozukluğuyla karakterize bir spektrum hastalığıdır. Menstrüel siklus değişiklikleri çoğu hasta için ilk belirtidir. POY için karakteristik bir menstrüel öykü yoktur. Hastalarda genellikle oligomenore, polimenore veya disfonksiyonel uterin kanama ile seyreden bir prodrom dönemi olmaktadır (8). Ek olarak infertilite POY'un ilk belirtisi olabilmektedir. Klinik belirtiler arasında östrojen eksikliğine bağlı semptomlar da yer almaktadır.

POY tanısı alan hastaların değerlendirilmesi dikkatle yapılmalıdır. Tanı kriterleri hakkında günümüzde net bir konsensüs olmadığı için tanı genellikle gecikmektedir. Sekonder amenore ile başvuran hasta grubunda POY ayırıcı tanı olarak akla gelmelidir. Başlangıç muayenesi yapılırken ilk olarak human koryonik gonadotropin beta (B-hCG), prolaktin (PRL), folikül stimülan hormon (FSH) ve tiroid stimulan hormon (TSH) seviyelerine bakılmalıdır (11). Etkilenen kadınların yaklaşık %50' sinde over fonksiyonu değişen düzeylerde devam etmektedir, hatta %5-10 olgu tanı aldıktan sonra spontan gebe kalabilmektedir (12-14).

POY'un kadın sağlığı üzerinde en göze çarpan olumsuz etkisi subfertiliteye neden olmasıdır. Hastalığın uzun dönem sağlık problemlerine yol açması ve infertiliteye sebep olması bakımından erken tanı konulması oldukça önemlidir. POY tanısı alan hastalar morbidite ve mortalite açısından artmış risk altındadır. Tanı konulduktan sonra hastalar östrojen eksikliği semptomları, fertilite istemi, kemik ve kalp sağlığı açısından detaylı değerlendirilmelidir. Tedavi almayan hastalar; Parkinson hastalığı, demans, osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar gibi uzun dönem komplikasyonlar açısından risk grubu içinde yer almaktadır (15, 16). Tanı konulan tüm POY hastalarına kromozom analizi, Frajil X premutasyonu taraması, pelvik ultrason yapılması önerilmektedir (8).

POY tanısı hem fiziksel hem ruhsal olarak yıpratıcı bir etkiye sahiptir. Hastalara yeterli bilgi verilmeli, görüşme mutlaka yüz yüze olmalı ve psikolojik danışmanlık açısından yönlendirme yapılmalıdır. Hasta yönetimi çok yönlü olmalı ve multidisipliner yaklaşım ile ele alınmalıdır. Hastalığın tedavisinde temel basamak hormon replasman tedavisi (HRT) kullanımıdır. Tedavinin hedefi eksik olan östrojeni yerine koymaktır. International Menopause Society (IMS), European Menopause and

Andropause Society (EMAS) ve North American Menopause Society (NAMS) gibi menopoz konusunda uluslararası saygın derneklerin ortak görüşü POY tanısı alan hastaya normal menopoz yaşı olan 50 yaşa kadar HRT verilmesi gerektiği yönündedir (10, 17, 18).

Endokan veya ESM-1 (Endotel Spesifik Molekül) 50 kDa moleküler ağırlığa sahip başlıca vasküler endotel hücrelerinden salınan çözünebilir bir proteoglikandır (19). İlk olarak 1996'da Lassalle ve ark. tarafından umbilikal ven endotel hücrelerinden cDNA (Deoksiribonükleik asit) klonlanarak tanımlanmıştır (20). Güncel araştırmalar endokanın inflamasyon, neovaskülarizasyon ve tümör oluşumunda anahtar role sahip olduğunu göstermiştir (21, 22). Endokan hem sağlıklı hem de anormal vasküler hücre gelişiminde rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda endotel inflamasyonu durumunda serum endokan seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (22). İnflamasyon; vazodilatasyon, ödem, iskemi ve organ yetmezliğine neden olan endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. Çalışmalarda inflamasyon mediatörlerinin endokan salınımını arttırdığı saptanmıştır (20, 21, 23, 24). Endokan günümüzde çeşitli kanserler ve inflamatuvar hastalıklar için kan ve doku bazlı bir biyobelirteç olarak kullanılmaya başlanmış ve umut verici sonuçlar vermektedir.

POY görülen olguların %90'ında altta yatan neden bilinmemektedir. Bu hastalığın ortaya çıkmasında inflamasyonun rol oynadığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. POY hastalarında viral enfeksiyonlar sonrası veya ovaryan hasara bağlı overin antijenik özellik kazanabileceği düşünülmektedir. Sonuçta inflamasyon ve immun regülasyonda bozulmaya bağlı ovaryan dokuda tolerans kaybı ve fonksiyon bozukluğu ortaya çıktığı düşünülmektedir (25). Endokan (ESM-1) vasküler endotel hücrelerinden inflamasyon durumunda salınan yeni bir belirteçtir. Yapılan çalışmalarda vasküler inflamasyonla ilişkili olduğu bilinen hastalıklarda serum endokan seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada inflamasyon belirteci olan endokan seviyelerinin tespit edilerek POY etiolojisinde rol oynadığı düşünülen inflamatuvar süreç ile ilişkisinin ortaya konması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİK (POY)

2.1.1. Tanım

Prematür ovaryan yetmezlik (POY); 40 yaş altı kadınlarda ovaryan folikül sayısının erken azalması, over fonksiyonunda bozulma, gonadotropinlere azalmış over cevabı veya folikül yıkımının artması gibi devam eden süreçleri içeren bir spektrum hastalığıdır (4, 8). Popülasyonda doğal süreç ile ilerleyen ovaryan yaşlanmanın erken dönemde ortaya çıkmasıdır (26). POY menstrüel düzensizlik (oligomenore, amenore), artmış gonadotropin ve azalmış östrojen seviyeleri ile karakterizedir (5).

Menapoz süreci fonksiyonel tüm primordial foliküllerin tükenmesi sonucu altta yatan patolojik bir neden olmaksızın 12 ay boyunca geri dönüşümsüz olarak menstrüasyonun kesilmesi (amenore) olarak tanımlanmaktadır. Ortalama yaş 50 ± 4 yıldır (27). 40 yaş öncesi menopoz her zaman patolojiktir ve prematür ovaryan yetmezlik olarak tanımlanır. Tanımlamada ki 40 yaş sınırı, ortalama menopoz yaşının < 2 standart deviasyon (SD) altını ifade etmektedir (1). Erken menopoz terimi ise kadınların 45 yaş altında en az 1 sene menstrüasyon görmemesi durumunda kullanılmaktadır.

POY kadınlarda anovulatuvar siklusların en sık dört nedeni arasında yer almaktadır. Anovulasyon terminolojisi Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasında 3 temel gruba ayrılmıştır. POY; hipergonadotropik hipogonadizm alt başlığında WHO grup III olarak sınıflandırılmaktadır.

Hastalığı tanımlamak için erken menopoz veya erken ovaryan yetmezlik gibi terimler tercih edilmekteydi. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar bu tanımlamaların hastalığın değişken ve uzun klinik formunu yeterince karşılayamadığını ortaya koymuştur. Rebar ve ark. POY olan 26 hastanın 9'unda folikül fonksiyonu gözlediklerini, bunlardan 5'inde ovülasyon 1'inde ise gebelik gözlediklerini bildirmişlerdir (12). Çalışmaların sonucunda hastaların %16-49'unda tahmin edilemeyen aralıklarla ovaryan fonksiyonların devam ettiği ve %5-10'unda tanı konulduktan sonra spontan gebeliklerin ortaya çıktığı saptanmıştır (13, 14, 28, 29). POY olgularının çoğunda overde yer alan foliküllerin anormal luteinizasyonu sonucu

over fonksiyonlarının normal işlevinin devam etmediği gözlemlenmiştir (30). Günümüzde elde edilen sonuçlar ile azalan over fonksiyon sürecini daha iyi yansıtan primer ovaryan yetersizlik teriminin erken menapoz veya prematür ovaryan yetmezlik tanımlarının yerine kullanılması daha uygun olacağı görüşü yaygınlaşmaktadır (3, 4).

Günümüzde kullanılan tanımlamalara göre POY gizli (occult) ve aşikar olmak üzere iki ana alt gruba ayrılmıştır (31). Occult POY; normal ovulatuvar menstrüel siklus varlığında ekzojen ve endojen gonadotropinlere anormal cevap olarak tanımlanmaktadır. Occult POY’u tanımlamak amacıyla azalmış ovaryan rezervi kullanılmakta idi ancak bu tanım günümüzde tercih edilmemektedir.

2.1.2. Tarihçe

Prematür ovaryan yetmezlik (POY) ilk olarak 1930 yılında adet gecikmesi ve üriner gonadotropin seviyelerinde meydana gelen artış olarak ifade edilmiştir (7). İlerleyen yıllarda hastalığın tanımlanması ile ilgili yetersizlik olduğu görüşü ile yeni bir arayış başlamış ve ilk olarak 1942 yılında Fuller Albright ovaryan disfonksiyonu tanımlamak için primer ovaryan yetersizlik terimini kullanmıştır (3).

2.1.3. Epidemiyoloji

POY prevalansı hakkında ilk kohort çalışma 1986 yılında Coulam ve ark. tarafından 1900 kadın üzerinde yapılmıştır. POY reproduktif çağıdaki kadınların %1’ini etkilemektedir (1). İnsidansı yaşla birlikte artmaktadır. 20, 30 ve 40 yaş için insidansı sırayla %0,01, %0,1 ve %1 olarak belirlenmiştir (32). Prevalansın etnisiteye göre değiştiği bilinmektedir. Etnik gruplar arasındaki bu farklılık hastalık etiolojisinde genetik faktörlerin etkisini düşündürmektedir.

Torgeson ve ark. yaptığı bir çalışmada hastaların %88’nin 45 yaşından sonra menapoza girdiği, %9,7’sinin 45 yaşından önce (erken menapoz), yalnızca %1,9’nun 40 yaşından önce (POY) menapoza girdiği bulunmuştur (33). Bu verilere göre POY ve erken menapoz kadınların %10’unu etkilemektedir.

Günümüzde POY vakalarının arttığına dair kanıta dayalı bir veri bulunmamaktadır. Ancak çocuk ve genç kadınlarda görülen kanser vakalarının kür

oranındaki iyileşmeler nedeni ile POY vakalarının artmış olabileceği tahmin edilmektedir (34, 35).

POY'un uzun dönem sağlık problemlerine yol açması nedeni ile insidansı azaltılmaya çalışılmalıdır. Değiştirilebilir risk faktörleri arasında; sigara, jinekolojik operasyonlar ve kronik hastalıklar veya kanserler için kullanılan ilaçlar bulunmaktadır (5).

2.1.4. Ovaryan Fizyoloji ve Patogenez

i. Ovaryan fizyoloji

Ovaryan farklılaşmanın ilk işaretleri 5. gestasyonel haftada, primordial germ hücrelerinin yolk sac endoderminden ameboid hareketlerle genital kabartıya migrasyonu ile başlamaktadır. Genital kabartıya ulaşan germ hücreleri oogonia olarak adlandırılır ve germ hücre havuzunu oluşturmak için çoğalırlar. Takip eden haftalarda oogonia olarak bilinen bu hücrelerde mitoz gerçekleşerek gestasyonun 16-20. haftalarında sayıları yaklaşık olarak 6-7 milyona ulaşmaktadır. Bu sayı yaşam boyu gonadın sahip olduğu maksimum kapasitedir. Bu noktadan itibaren programlı hücre ölümü ile yaklaşık 50 yaşına kadar oositler geri dönüşsüz bir şekilde yok olmaktadır. Doğumda oosit sayısı 500.000-2.000.000 civarında olup, pubertede ise bu sayı 300.000'e kadar düşmektedir.

Overler endokrin sistemde benzersiz bir yere sahiptir çünkü her ay over içerisinde tamamen yeni bir salgısal yapı gelişmektedir (8). Folikül oluşumu; pregranuloza hücrelerinin yeniden düzenlenmesi, bazal membranın tek bir gamet içerecek şekilde kısmi olarak yıkılıp yeniden oluşturulması süreçlerini içerir (36). Folikül oluşumu ilerledikçe hatalı oluşan foliküllerin yıkımı gerçekleşir. Yeterli granuloza hücre desteği alamayan foliküllerin kaybı ile gamet kaybı gittikçe artar. Bu mekanizma fetal hayatta sahip olunan yaklaşık 6 milyon olan oosit sayısını doğumda 1 milyona kadar indirmektedir (37). Reprodüktif yaş aralığında sabit olarak aylık yaklaşık 1000 folikül kaybı gerçekleşir. 37 yaşından itibaren bu sayı artmaya başlar.

Reprodüktif yaşlanma sürecinde ovaryan korteksteki oositlerin hem sayısında hem kalitesinde kademeli bir azalma meydana gelmektedir. Folikül sayısı 25.000'in altına düştüğünde folikül kayıp hızının neredeyse iki katına çıktığını ve buna bağlı

klirikte fertilite oranlarının belirgin azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (37, 38). Bu çalışmaların sonucunda folikül sayısının 25.000 seviyesinde olduğu zaman ile menapoz arasındaki sürenin yaklaşık 13 yıl olduğunu öne süren ‘fiks interval hipotezi’ ortaya atılmıştır. Bu hipoteze dayanılarak POY hastalarında subfertilitenin 30 yaşından önce ortaya çıkabileceği düşünölmektedir (37).

Apopitozis olarak adlandırılan programlanmış hücre ölümünün prematür ovaryan yetmezlik patogenezinde oldukça önemli olduğu bildirilmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda; gonadotropinler, östrojen, büyüme faktörleri, sitokinler, aktiniskeletin reorganizasyonu ve nitrik oksitin hücreyi apoptozdan koruduğu ve bunun aksine tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α), fas ligandları, androjenlerin ise apoptozu uyardığı bildirilmiştir (39, 40).

ii. Patogeneze

Primer hipogonadizm; over fonksiyonlarının yetersiz olması veya hiç olmaması durumunda kullanılan terimdir. POY 40 yaşından önce ortaya çıkan primer hipogonadizm formu olarak tanımlanabilmektedir. POY oosit kaybı, folikülogenez eksikliği, azalmış ovaryan steroid sentezi ve infertilite ile karakterizedir (13, 30).

Reprodüktif ağdaki bir kadında normal ovaryan fonksiyon için düzgün zamanlı çalışan hipotalamo-hipofizer-ovaryan aks gereklidir. Bu kaskadın herhangi bir aşamasında hata olması sonucunda ovaryan disfonksiyon ortaya çıkmaktadır. Patolojik olarak ovaryan fonksiyonda görölen defektler iki ana grupta incelenmektedir; hızlanmış folikül kaybı ve oosit kaybı olmadan azalmış steroid üretimine neden olan ovaryan disfonksiyon. Her iki durum da aynı şekilde fonksiyonel over yetersizliği ile sonuçlanmaktadır. Ovaryan disfonksiyon patogenezinde üstünde durulan diğer teoriler germ hücre migrasyon bozukluğu ve ovaryan gelişimde rol oynayan tek gen bozukluklarıdır.

Hızlanmış folikül kaybı in utero başlangıç folikül havuzunun yetersiz olmasından kaynaklanabileceği gibi; genetik, otoimmün, çevresel ve toksinlere bağlı olarak ortaya çıkabilmekte ve POY tablosu oluşturmaktadır.

POY hastalarında viral enfeksiyonlar sonrası veya ovaryan hasara bağlı overin antijenik özellik kazanabileceği düşünölmektedir. Sonuçta inflamasyon ve immün regölasyonda bozulmaya bağlı ovaryan dokuda tolerans kaybı ve fonksiyon bozukluğu

ortaya çıktığı düşünülmektedir (25). POY olan hastalarda uzun dönem çalışma olmamasına rağmen hastaların gonadotropin stimülasyonuna zayıf cevabı erken dönem menapozla ilişkilendirilmiştir (41, 42). 4601 hasta ile yapılan çalışmada gonadotropinlere yetersiz cevap veren grupta menapoz başlangıcının 4 kat daha hızlı olduğu saptanmıştır. (43).

2.1.5. Etiyoloji

POY nedenleri ve fenotipi bakımından oldukça değişkenlik gösteren heterojen bir bozukluktur. POY vakalarının yaklaşık %90'ı idiopatikdir ve yapılan tüm incelemelere rağmen altta yatan bir neden bulunamamaktadır (29). Sayısal ve yapısal kromozom anomalileri, Frajil X premütasyonu, otoimmün hastalıklar, radyoterapi veya kemoterapi POY'un önemli nedenleri olarak belirlenmiştir. 10 yıl boyunca başvuran 373 POY hastası ile yapılan çalışmada olguların yalnızca 44 (%11,8)'ünde kesin bir neden saptanmıştır (44). Tablo 1'de POY nedenleri gösterilmektedir.

Tablo 1. Prematür Ovaryan Yetmezlik Nedenleri

1.Genetik Nedenler	Etki Mekanizması
<i>a. X kromozomuna bağlı nedenler</i> Turner sendromu (45,X veya mozaik) Frajil X premutasyonu (Xq27.3 – FMR1) X kromozom delesyon ve translokasyonu Trizomi X	<i>hızlanmış foliküler atrezi</i>
<i>b. 46 XX karyotip ile ilişkili mutasyonlar</i> Xp22.11-p21.2 mutasyonları (Swyer sendromu) 5 cen mutasyonları	
<i>c. Otozomal nedenler</i> i. Reprodüktif sistem üzerinde etkisi olan enzim mutasyonları Galaktozemi (galaktoz-1-fosfat üridil transferaz eksikliği) Steroidogenez enzim defektleri (17- α hidroksilaz, Aromataz gen mutasyonu , StAR mutasyonu) ii.Gonadotropin reseptör mutasyonlar FSHR-LHR Gs alpha subunit mutasyonu İNHA (inhibin reseptör mutasyonu) iii.İlişkili diğer gen mutasyonları ESR2 GDF9 (Gonadotropin iv.Ovaryan modülatör gen mutasyonu BMP15 (Xp11.2) (Bone Morphogenic Protein 15) v.Diğer mutasyonlar BPES (Blefarofimozis, Pitozis,Epikantus İnversus Sendromu)	<i>anormal foliküler stimülasyon</i> <i>hızlanmış foliküler atrezi</i> <i>hızlanmış foliküler atrezi</i>
2.Otoimmün nedenler Otoimmün lenfositik ooforit AIRE (Otoimmün Poliendokrin Sendrom Tip 1)	<i>hızlanmış foliküler atrezi</i> <i>hızlanmış foliküler atrezi+foliküler disfonksiyon</i>
3.İatrojenik nedenler Kemoterapi (alkilleyici ajanlar) Radyoterapi Ovaryan cerrahi	<i>hızlanmış foliküler atrezi</i>
4.Çevresel ovaryan toksinler Virüsler (CMV, kabakulak) Sigara	<i>hızlanmış foliküler atrezi</i>
5.İdiopatik nedenler	

2.1.5.1. Genetik Nedenler

POY etiolojisinde genetik faktörlerin rol oynadığına dair yapılan pek çok çalışma mevcuttur. Aile ve ikiz çalışmalarında, menapoz yaşının belirlenmesinde genetik faktörlerin rol oynadığı gösterilmiştir. Anne, kız kardeş, teyze veya anneannesinde erken menapoz öyküsü olan kadınların 45 yaş öncesi menapoza girme riski toplumdan 4-9 kat fazla bulunmuştur (45). Eğer ailede birden fazla bireyde ve 40 yaşından önce menapoz öyküsü var ise risk daha da artmaktadır. Günümüzde

epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki menapoz yaşı anneden kıza aktarılmaktadır (33, 46, 47).

Ailevi POY vakalarının tüm POY hasta grubunun %4-31'ini oluşturduğu düşünülmektedir (44, 48). Normal karyotipe sahip POY hastalarında ailesel POY insidansı %12,7 olarak saptanmıştır (30). Geçmiş yıllarda yapılan çalışmalarda ailesel kalıtımı olan hastalarda otozomal dominant ve X'e bağlı kalıtımı düşündürülen veriler elde edilmiştir (49, 50). İdiopatik POY hastalarını içeren geniş serili yapılan araştırma verileri ailesel POY insidansının yüksek olduğunu ve otozomal veya X'e bağlı genetik geçişi doğrular niteliktedir (48). Ardından yapılan diğer bir çalışmada ise idiyopatik POY hastalarında %28,5 oranında ailesel geçiş saptanmış olup bunların anneden, babadan veya her ikisinden birden aktarıldığı gösterilmiştir (51).

2.1.5.1.1. Yapısal ve sayısal kromozom anomalileri

Normal kadın fertilitesi ve over fonksiyonunun sağlanması için iki fonksiyonel X kromozomuna ihtiyaç olduğu bilinmektedir. Ovaryan fonksiyon bozukluğu olan kadınlarda çok çeşitli yapısal ve sayısal kromozom anomalisi tanımlanmıştır. Bu bulgular POY olan olgularda karyotip tayininin önemini vurgular niteliktedir (52). Anomalilerin yarısı sayısaldır. Sayısal anomaliler X kromozom veya Y kromozom mozaizmini de içermektedir. POY'a en sık sebep olan diğer anomaliler X kromozom delesyonu, inversiyonu, duplikasyonu ve otozomal translokasyonlar olarak gösterilmektedir (4). Alternatif olarak X kromozomunun merkezindeki metilasyon hatası mayozda anormal eşlenme ile sonuçlanıp oosit apoptozisine neden olmaktadır (53). X kromozom anomalileri sıklıkla ailesel POY olguları ile ilişkilidir (4).

Spontan POY hastalarının çoğu 46,XX karyotipe sahiptir. Adölesan grupta görülen POY'un ise altta yatan nedeni sıklıkla gonadal disgenezidir. Primer amenoresi olan adölesanların %50'si anormal karyotipe sahiptir. 30 yaş altı sekonder amenoresi olan kadınların ise %13'ünde anormal karyotip saptanmıştır (54).

i. Turner sendromu

45,XO mozaizmi en sık rastlanan kromozomal anomaliler arasında yer almaktadır. Fertilitiyi etkileyen anomalilerin en iyi bilinenidir. Turner sendromu tüm gebeliklerin %1,5'inde ve spontan abortların %10'unda saptanmaktadır. 2500 canlı

doğumda 1 görülmektedir (55). Hastaların %50'sinde saf 45,X monozomisi mevcuttur. En sık ve en ciddi fenotipik bulgulara sahip olan formdur. Normal X kromozomu hastaların yaklaşık üçte ikisinde maternal kaynaklıdır (56, 57).

Sekiz 45,XO fetüsün overlerinde yapılan erken histolojik çalışmalar Turner sendromunda gonadal yetmezliğin anlaşılmasının temelini oluşturmaktadır (58). Gonadlar çok az atrezik folikül içeren veya hiç folikül içermeyen az miktarda bağ dokusuyla karakterize 'streak gonad' şeklindedir. Gelişimin ilk 12 haftasında overler normal sayıda primordial germ hücreleri içermektedir. İlerleyen haftalarda ise germ hücre apoptozisi hızlanıp bağ doku komponenti artar (58, 59). Bu sonuçlar Turner sendromunda ovaryan yetmezliğin anormal germ hücre gelişiminden ziyade hızlanmış oosit kaybına bağlı olduğunu düşündürmektedir. Hastaların çoğunda ilk dekatta oositlerin çoğu kaybedilmekte ve puberte döneminde ovaryan folikül havuzu tükenmektedir. Bu vakalarda 45,XO genotipi ve primer amenore saptanmaktadır (60). Mozaizm saptanan vakalar, daha hafif fenotipe sahip olup atrezi hızı görece daha yavaş ilerlemekte ve hastaların %40'ı gonadal yetmezlik gelişmeden önce spontan olarak puberteye girmektedir (61). Açıklanamayan POY olgularının bir kısmında altta yatan nedenin X kromozom mozaizmi olabileceği düşünülmektedir (62). POY tanısı konan hastalarda 45,XO insidansı %5-40 arasında değişmektedir (63).

Fertilite konusunda aileler bilgilendirilirken fertilite arzusu olan çoğu hastanın oosit donasyonuna ihtiyaç duyduğu; ovaryan fonksiyon gözlenen az sayıdaki hastanın spontan gebe kalabileceği anlatılmalıdır. Gebe kalınması durumunda, gebelik kaybı ve konjenital anomali riskinin artmasından dolayı hastalara mutlaka genetik danışmanlık verilmelidir (64).

ii. X kromozomuna bağlı diğer nedenler

X kromozomunda görülen delesyon, inversiyon, duplikasyon ve otozomal tranlokasyonlar POY'un en sık sebeplerindendir. Yapılan sitogenetik ve klinik çalışmalarda, X kromozomu üzerinde kritik bölgelerde oluşan delesyon ve translokasyonların ovaryan gelişim ve fonksiyon üzerine etkileri olduğu gözlenmiştir. Bu kritik bölgelerin Xq13-Xq26 loküsünde olduğu bildirilmiştir (65).

Yapılan moleküler delesyon analizi ile Xq21.3-q27 olan bölge POF-1 (Premature Ovarian Failure) geni olarak isimlendirilmiş ve over fonksiyonları

üzerinde çok önemli bir yeri olduğu bildirilmiştir (66). POF-1 gen bölgesinde POY için en iyi bilinen aday genler Fragile Side Mental Retardation 1 (FMR1), Transkripsiyon Factor DP Family member 3 (TDPF3) ve Glypikan 3 (GPC3) yer almaktadır (67). Powell ve ark. moleküler tekniklerle yine POF-2 geni olarak bilinen paternal orjinli ve POF-1 genine göre daha proksimalde yer alan Xq13.3-q21.1 loküsünü tanımlamışlardır (68). Bu çalışmada POF-1 delesyonu bulunan hastalarda POF-2 delesyonu bulunan hastalara göre daha erken yaşta POY oluşabileceği belirtilmiştir (66, 68).

Kırılma noktalarının haritalanması ile yapılan bir çalışmada POF-2 gen bölgesinde Diaphanous Homolog 2 (DIAPH2) geni belirlenmiştir. DIAPH2 geninin oogenezde rol oynadığı, sekonder amenoreye yol açtığı ve infertiliye neden olabileceğini düşündüren bulgular elde edilmiş ve bu sonuçlar ile POY etiyolojisinde değerlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir (69). Piuetti ve ark. POY olan hastalarda tanımlanan iki adet dengeli translokasyon bölgesi Xq13-q22 ve Xq22-q26'da yaptıkları inceleme ile XPNPEP2 adlı yeni bir aday gen olduğunu bildirilmişlerdir (70). Bir çok farklı araştırmada SOX3 geni Xq26-q27 loküsü ve anjiogenezis 2 reseptör geni Xq22 loküsü gibi değişik gen loküslerindeki mutasyonların POY ile ilişkili olabileceğinden bahsedilmektedir (71).

iii. Frajil X sendromu

Frajil X sendromu CGG trinükleotidinin FMR1 gen Xq27.3 loküsündeki tekrar sayısında artışla ortaya çıkmaktadır (72, 73). CGG trinükleotidinin 5'UTR bölgesinde normal tekrar sayısı 40 ve altıdır. 40-55 tekrar arası gri zon veya ara bölge olarak isimlendirilmektedir. 55-200 arası tekrar sayısı premutasyon taşıyıcılığını gösterirken 200'den fazla tekrar sayısı Frajil X sendromuna (full mutasyon) neden olmaktadır. Gri bölge mutasyonunun gelişme olasılığı oldukça azdır. Premutasyon taşıyıcısı anneden doğan fetusta tekrar sayısı artıp full mutasyon ortaya çıkabilmektedir (74). Yapılan çalışmalar gri zon ve premutasyon taşıyıcılığının iki veya daha sonraki jenerasyonda full mutasyona neden olabileceğini ve POY oluşturabileceğini göstermektedir (75, 76). Full mutasyonda yüksek tekrar oranı genin hipermetile olmasına neden olup Frajil X mental retardasyon protein (FMRP) sentezini durdurur. Premutasyon taşıyıcılarında CGG tekrar sayısı ile orantılı olarak mRNA (mesajcı ribonükleik asit) sentezinin

arttığı saptanmıştır ve bazı çalışmalarda bu duruma bağlı FMRP sentezinin azaldığı ancak üretiminin devam ettiğini bildirilmiştir (77, 78). Bazı çalışmalarda ise premutasyon taşıyıcılarında FMRP sentezinin normal olarak devam ettiği gösterilmiştir (79). FMR2 daha distalde Xq28 loküsünde yer almakta olup POY ile ilişkilendirilmiştir (80).

Frajl X sendromu dünyada hereditör zeka geriliğinin bilinen en sık genetik nedenidir. Hastalık erkek cinsiyette daha fazla görülmekte ve daha ağır seyretmektedir. İlk olarak 1897 Denver merkezli yapılan konferansta premutasyon taşıyıcılarında 20'li yaşlarda menapoz görüldüğü belirtilmiştir. İlerleyen yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki menapoz yaşı ve POY ile Frajl X premutasyon taşıyıcılığı arasında kuvvetli bir ilişki mevcuttur (81, 82). Cronister ve ark. yaptıkları çalışmada 40 yaşından önce menapoz başlangıcı oranını premutasyon taşıyıcılarında kontrol grubuna göre %5'e karşılık %13 olarak tespit etmiştir (83).

Frajl X sendromu normal popülasyonda 259'da 1 görülmektedir (84). Premutasyon taşıyıcılığının popülasyondaki sıklığı ise 350'de 1 olarak saptanmıştır (85). Premutasyon taşıyıcılarında POY görülme sıklığı %16-24, full mutasyon hastalarında görülme sıklığı %1 ile normal popülasyona benzer olarak saptanmıştır (81). Sporadik POY olanlarda premutasyon taşıyıcılığı %2-5 iken aile öyküsü olanlarda bu oran %12-14 olarak saptanmaktadır (86, 87). Günümüze kadar yapılan çalışmaların derlemesinde premutasyon taşıyıcılarında POY riski %21 olarak genel popülasyona oranla oldukça yüksek saptanmıştır (88). Frajl X sendromu olan ailelerdeki premutasyon taşıyan kadınların %13-15'inde POY gelişmektedir (89, 90). Premutasyon babadan kaynaklı ise POY riskinin daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (91).

Premutasyon taşıyıcısı olan kadınlarda yükselmiş FSH ve azalmış inhibin B seviyeleri tespit edilmiş buna bağlı olarak düzenli adet görseler bile bu hastalarda erken ovaryan yaşlanma belirtileri gösterilmiştir. Bu hastalarda menapoz yaşı 5 yıl daha erken bulunmuştur (92, 93). Full mutasyon taşıyıcılarında ise üreme ile ilgili herhangi bir bozukluk saptanmamaktadır (4).

Premutasyon taşıyıcılığının POY'a hangi mekanizma ile yol açtığı tartışma konusudur. Over rezervini azalttığı ve atrezi hızını arttırdığına dair hipotezler mevcuttur (94). FMR proteininin hormon salınımını kontrol eden beyin hücrelerinde,

fetüste gelişmekte olan primordial germ hücrelerinde ve yetişkin granüloza hücrelerinde sentezlendiği saptanmıştır (95-97). FMRP artmış ekspresyonu sonucunda erken oosit gelişiminin hızlanarak başlangıç oosit havuzunun azalabileceği düşünülmektedir. Premutasyon taşıyıcılarında FMR proteini normal fonksiyon gösterirken hastaların lökosit ve nöronlarında FMR1 mRNA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (4). Artmış mRNA seviyelerinin overe toksik etkisi olabileceği öne sürülmüştür (98). Conway ve ark. premutasyon taşıyıcılarında mRNA artışına bağlı fetal overde FMR1 transkripsiyonunun engellendiğini ve buna bağlı folikül havuzunun azaldığını öne sürmektedir (99). Yapılan diğer çalışmalarda ise mRNA'nın indirekt etki ile premutasyon transkriptlerinin mislokasyonuna veya anormal bağlayıcı protein gelişimine neden olup foliküler gelişimi bozarak atreziye yol açtığı öne sürülmüştür (100, 101).

CGG trinükleotid tekrar sayısının 40-80 arasında olması durumunda POY riskinin giderek arttığı bu seviyeden sonra plato çizerek azaldığı gösterilmiştir ancak bu duruma yol açan mekanizma henüz bilinmemektedir (75, 102).

American College of Obstetricians and Gynaecologist (ACOG), görülme sıklığının yüksek olması nedeni ile POY olan tüm hastalarda ve 40 yaş öncesi FSH yüksekliği olanlarda FMR1 premutasyon taraması yapılmasını önermektedir (103, 104). Ayrıca Amerikan Medikal Genetik Komitesi infertilite şikayeti olan kadınlarda ailesinde POY öyküsü veya Frajil X sendromu öyküsü olan ve tanı konmamış mental retarde aile bireyi olanların da taranmasını önermektedir (105).

iv. Trizomi X

İlk kez 1959 yılında 19 yaşında sekonder amenore ile başvuran normal entelektüel zekaya sahip bir kadında tanımlanmıştır. Fazladan bir X kromozomu bulunması ile karakterize seks kromozom anöploidisidir (106). 'Süper dişi' olarak da isimlendirilen trizomi X 1.000 canlı doğumda bir görülmektedir ancak etkilenen bireylerin yalnızca %10 kadarının tanı aldığı bildirilmiştir (107). Hastaların çoğunda puberte başlangıcı ve seksüel gelişim normal olmakla birlikte, literatürde ovaryan ve uterin disgenezi bildirilen olgular mevcuttur. Yapılan bir çalışmada POY hastalarının %3'ünde trizomi X saptandığı gösterilmiştir (108). Çalışmalarda 19-40 yaş aralığında POY ile birliktelik gösteren trizomi X vakaları bildirilmiştir (109).

2.1.5.1.2. POY ile ilişkili diğer genler

Akraba evliliği olan ailelerde yapılan genetik çalışmalar ile bir dizi yeni gen keşfedilmiştir (110, 111). Bu genlerin mutasyonları oldukça nadir görülmekte ancak POY ile ilişkili olup primer amenoreye neden olmaktadır. Mutasyonların genellikle DNA tamir ve onarım aşamasında veya mayoz safhalarında izlendiği bildirilmiştir (110-114). Genlerin bir kısmı genel popülasyonda menapoz yaşı ile ilişkili olan genom bölgeleriyle örtüşmektedir (111). STAG3, SYCE1, MCM8 (mini-chromosome maintenance), MCM9, SPIDR, PSMC3IP, BRCA2 (breast cancer type susceptibility) ve ESR2 (östrojen reseptör beta gen) gonadal disgenezi ile ilişkili bulunan genlerdir.

POY'da oosit havuzunun hızlı şekilde azalmasına eşlik eden granuloza hücre kaybı görülüyor olması, oositlerde eksprese edilen ve granuloza hücre çoğalmasına neden olan genleri POY için kuvvetli aday genler arasına sokmaktadır. BMP15 (bone morphogenic protein 15) ve GDF9 (growth differentiation factor 9) genleri ise tam olarak bu kriterleri karşılamaktadır (115).

İnhibinin, hipofizer FSH salınımının negatif bir modülatörü olması ve parakrin olarak ovaryan fonksiyonları etkilemesi nedeni ile inhibin A (INHA), POY ile ilgili mutasyon çalışmaları için aday genlerden birisi olmuştur (116). INHA ile POY arasındaki bağlantıya işaret eden ilk bulgu 46,XX,t(2;15)(q32.3;q13.3) translokasyonuna sahip bir POY hastasında, translokasyon kırılma noktasının INHA alt birimine denk gelmesi olmuştur.

2.1.5.1.3. Gonadotropin Reseptörleri

Gonadotropin reseptörü ve steroidojenik enzim kusurları normal folikül büyümesinde veya steroidogenezde başarısızlığa neden olur. Terminolojide yapılan değişiklik sonucunda gonadotropin reseptör mutasyonlarının POY nedeni olarak değil sekonder ovaryan yetersizlik nedenleri arasında değerlendirilmesi düşünülmektedir (4).

FSH reseptörü (FSHR) mutasyonlarının önemli olanları primer amenore, küçük over ve yüksek FSH seviyelerine neden olmaktadır. LH reseptörü (LHR) geninin, her iki allelinin de inaktive olduğu varyantları 46,XX kadınlarda nadir POY nedenlerinden birisidir. Mutasyon kadınlarda primer amenore, düşük östrojen seviyeleri, kistik overler ve yükselmiş LH seviyeleri ile ilişkilidir (4).

2.1.5.1.4. Steroidogenez enzim defektleri

Steroidogenezde yer alan enzim defektleri, FSH ile stimüle granuloza hücreleri ve folikül proliferasyonu olmasına rağmen, östrojen sentezini engellemektedir. Steroid akut regülatuar protein (StAR), 17- α hidroksilaz ve 17,20-liyaz enzimindeki mutasyonlar konjenital adrenal yetmezlik tablosu ile birliktelik gösteren POY nedeni olabilmektedir (117).

Aromataz mutasyonları da östrojen sentez eksikliği ve primer amenore tablosu oluşturmaktadır (118). NR5A1 (Steroidojenik faktör 1) mutasyonu ilk olarak 4 aileyi kapsayan bir çalışmada tanımlanmıştır. Adrenal yetmezlik olmadan 46,XY seksüel gelişim bozukluğu ve 46,XX POY'a neden olduğu gösterilmiştir ve POY'un nadir nedenlerinden biri olarak düşünülmektedir (119).

2.1.5.1.5. Galaktozemi

Galaktozemi, otozomal resesif kalıtımı olan galaktoz 1-fosfat üridil transferaz (GALT) eksikliğine bağlı gözlenen oldukça nadir bir metabolik bozukluktur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda galaktozemide biriken galaktoz ve metabolitlerinin oositler üzerine toksik etki yaparak prematür destrüksiyona yol açtıkları bilinmektedir (120). Kadınlarda primer amenoreye neden olacak kadar erken dönemde POY ortaya çıkmaktadır (121).

POY olan olgularda yapılan over biyopsilerinde primordial folliküllerin bulunduğu ancak folliküler büyüme ve gelişmede anormallikler olduğu bildirilmiştir (122). Folikül yıkımının postnatal ortaya çıktığı tahmin edilmektedir. Galaktozemili kadınlarda yalnızca immatür folliküllerin gösterilmesi foliküloneogenezde defekt olduğunu düşündürmektedir (123). Galaktozeminin kabul edilen bir diğer etkisi de gonadotropinlerin glikozilasyonunun etkilenecek biyolojik aktivasyonlarının azalmasıdır.

Galaktozemili kadınlarda POY sık görülmektedir. Yapılan çalışmalarda galaktozemili 47 kadının %81'inde POY geliştiği tespit edilmiş ve bunların yaklaşık %83'ünün sekonder amenore şikayeti ile tanı aldığı bildirilmiştir (124). Hastalar doğumda veya hemen sonrasında tanı alıp tedaviye başlanmasına rağmen sadece diyet ile over hasarı geri çevrilememektedir (125).

2.1.5.2. Otoimmün hastalıklar

POY hastalarının %10-20'sinde organa spesifik bir otoimmün hastalık tabloya eşlik eder (126). POY ile ilişkili olarak çok sayıda endokrin (tiroidit, adrenal hastalıklar, hipoparatiroidi, diabetes mellitus ve hipofizit) ve endokrin dışı (kronik kandidiyazis, idiopatik trombositopenik purpura, vitiligo, alopesi, otoimmün hemolitik anemi, pernisiyöz anemi, sistemik lupus eritematozis, romatoid artrit, Crohn hastalığı, Sjögren sendromu, myasthenia gravis, primer biliyer siroz, kronik aktif hepatit) otoimmün hastalık rapor edilmiştir (127, 128). En sık endokrin bozukluk hipotiroidizm olarak bildirilmektedir (129). Anasti ve ark. prospektif olarak 119 normal karyotipli POY hastası taramış, %27 oranında hipotiroidizm, %2,5 oranında Addison hastalığı ve %2,5 oranında ise Diabetes Mellitus tespit edildiğini bildirmiştir (130).

POY'da otoimmünite iki farklı kategori altında incelenmektedir; adrenal yetersizlik ile birlikte görülen veya diğer otoimmün hastalıkların eşlik ettiği. POY vakalarının yaklaşık %2-10'una adrenal yetmezlik eşlik etmekte ve buna bağlı otoimmün ooforit tablosu gelişmektedir (129, 131). Yalnızca adrenal yetersizlik veya otoimmünitenin eşlik ettiği POY hastalarında gerçek otoimmün ooforit gösterilmiştir (14, 127).

Adrenal yetmezliğin eşlik ettiği otoimmün ovaryan yetmezlik Poliglandüler Sendrom Tip 1 ve 2'nin bir parçası olarak görülebilmektedir. Tip 1 Poliglandüler Sendrom çocukluk çağında mukokutanöz kandidiazis, hipoparatiroidizm, adrenal yetmezlik ve olguların %60'ına eşlik eden POY ile birlikte görülmektedir. 21.kromozom üzerinde yerleşen AIRE (autoimmune regulator) mutasyonu sonucunda ortaya çıktığı ve düzenleyici T hücre fonksiyonunu etkilediği gösterilmiştir (132, 133). Tip 2 Poliglandüler Sendrom ise adrenal yetmezlik ve hipotiroidi ile karakterizedir ve olguların sadece %10'una POY eşlik ettiği gösterilmiştir (127).

Irvine ve ark. ilk olarak steroid üreten hücrelere karşı antikor fikrini ortaya koymuş ve primer amenoreli Addison hastalarında %95, sekonder amenoreli olanlarda ise %60 oranında antisteroid antikorları tespit ettiklerini bildirmiştir (130). Adrenal yetmezlikli ve normal ovaryan fonksiyona sahip hastaların %40'ında spesifik antikorların bulunduğu ve bu hastalarda 10-15 yıl içerisinde POY gelişebileceği bildirilmiştir (134). Betterle ve ark. 165 Addisonlu hastadan 13'üne POY tanısı

koymuş ve bunların %85'inde antisteroid antikorları, %92'sinde ise 17 α hidroksilaz ile sitokrom P450 enzim kompleksine karşı antikorların varlığını tespit etmiştir (135). Ahonen ve ark. ise Tip 1 Poliglandüler Endokrin Yetmezlik Sendromu bulunan ovaryan ve adrenal yetmezlikli hastalarda antisteroid antikorlarının varlığını göstermiştir (136). Yapılan çalışmalarda antisteroid antikorlarının ovaryan yetmezliği tespit edebilme duyarlılığı %100, özgüllüğü ise %56 olarak bildirilmektedir (136). Aynı antikorların hücre kültüründe granüloza hücrelerine sitotoksik olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada POY olan vakalarda %3 oranında antisteroid antikorlarının saptandığı ve bu antikorların ovaryan yetmezliğin gelişebileceğini göstermede başarılı olduğu bildirilmiştir (137, 138).

POY etiolojisinde otoimmünite ve ovaryan inflamasyon sürecinin patogenezi nasıl etkilediği hala bilinmemektedir. Viral veya ovaryan toksin hasarının neden olduğu antijenite ve immün regülasyondaki bozukluk sonucunda ovaryan doku toleransının bozulduğu ve antikor aracılı inflamasyon ile ovaryan doku hasarı olduğu düşünülmektedir. Literatürde bu konuda yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. İlk olarak hayvan deneylerinde organ spesifik antikorların oluşumu ile ovaryan lenfositik infiltrasyon olduğu ve sonucunda over dokusu hasarı ile organ fonksiyon kaybı ortaya çıktığı gözlenmiştir (139). Miyake ve ark. ise yaptıkları çalışmada POY hastalarında kontrol grubuna oranla CD4/CD8 (cluster of differentiation) oranının artmış olduğunu bildirmiştir (140). Bir hayvan modeli çalışmasında immün regülasyon kaybı sonucunda oosit spesifik patojen T lenfositlerin B lenfositleri stimule etmesi sonucunda oositlere karşı antikor oluştuğu izlenmiştir (141).

Patolojik çalışmalar sonucunda preantral ve antral foliküllerin teka hücrelerinin mononükleer hücreler ile infiltre olduğu gözlenmiştir. Primordial foliküller etkilenmemiş olup granüloza hücreleri LH piki ile luteinize olmadan önce ayrılmaktadırlar. İmmün reaksiyon steroid üreten hücreleri etkileyerek androstenedion ve östrojen sentezini bloklar. Östradiol kıyasla inhibin B salgısı normal olarak devam eder (142). Östrojen yokluğunda giderek artan FSH seviyeleri ovaryan folikülü büyütür sonuçta kist formasyonuna neden olur ve bu hastalarda inhibin B seviyeleri çok yüksek saptanmaktadır. Otoimmün ooforitte fertilitenin bozulmaması primordial folikülün etkilenmemesine bağlıdır. Ancak overdeki immün reaksiyon sınırlı kalmayıp tüm foliküllerin etkilenmesi sonucu POY ortaya çıkabilmektedir (143, 144).

İdiopatik POY hastalarının, periferik kanda aktive olmuş T hücre sayılarında artış olduğu bildirilmiştir (127). Ancak postmenapozal kadınlarda aktive T hücre sayısında artış olduğu ve östrojen replasmanı ile aktive T hücre sayısının azaldığı gösterilmiştir. Dolayısıyla aktive T hücre sayısındaki artışın ovaryan yetmezliğin sebebi mi yoksa bir sonucu mu olduğu netlik kazanmamıştır (145).

Otoimmün ooforitte özellikle inflamatuvar bir sürecin etkili olduğu düşünülmektedir. Erken ve baskılayıcı bir immün tedavi yöntemi ile primordial foliküllerin korunup over fonksiyonunun tekrar kazanılabileceği düşünülmektedir (25). Anti-B hücre tedavisinin POY ile ilişkili infertilite vakalarının tedavisinde umut verici olduğu gösterilmiştir (146).

Tiroidin otoimmün hastalıkları, en sıklıkla da Hashimoto tiroiditi tanı anında POY hastalarının %14-27'sinde mevcuttur (127, 130). Bu nedenle hastaların tirotropin seviyeleri ve tiroid peroksidaz antikorları açısından incelenmesi yararlı görülmektedir (54). POY hastalarının %4'ünde adrenal antikor pozitifdir ve bu durumdaki hastaların %50'sinde adrenal yetmezlik gelişme riski vardır (131). Bu nedenle hastaların adrenal antikor açısından taranmaları önerilmektedir ve hastalar semptomlar konusunda bilgilendirilmelidir (147).

2.1.5.3. İatrojenik Nedenler

Tüm pelvik cerrahilerin gerek ovaryan kan akımını bozarak gerekse pelvik bölgede inflamasyona neden olarak ovaryan hasarlanmaya yol açma potansiyeli vardır. Önemli miktarda over dokusu kaybının cerrahi sonrası POY geliştirebileceği bilinmektedir. Bu durum, direkt olarak folikül havuzundaki azalmadan kaynaklanabileceği gibi, ovaryan kan akımının azalması ve pelvik inflamasyon gibi indirekt faktörlerin neden olduğu ovaryan hasardan da kaynaklanabilir. Uterin arter embolizasyonunun da overlerin vasküler desteğini azaltarak POY'a neden olabileceği bildirilmiştir (148).

Kemoterapi ve radyoterapi ani over yetmezliği ve POY'a neden olmaktadır (35). Hem POY hem de akut over yetmezliği ile ilişkili risk faktörleri arasında Hodgkin lenfoma, overe yönelik radyasyona maruziyet, siklofosfamid ve prokarbazin gibi alkilleyiçi ajanlarla tedavi bulunmaktadır. Kanseri tanısı alma ve radyoterapi veya kemoterapiyle tedavi alma yaşı büyüdükçe (12 yaşından büyük) POY riski bağımsız

olarak artmaktadır. Hasta radyoterapi ve alkilleyici ajanla kombine tedavi edildiğinde POY riski %30'lara ulaşmaktadır. Hasta eğer 21 yaşından sonra alkilleyici ajanla tedavi ediliyorsa POY riski %50'den fazla olarak belirlenmiştir (149) . Kemik iliği transplantasyonu için hazırlanıyorsa riskin yaştan bağımsız %100'lere kadar çıktığı bildirilmiştir (150).

Çocukluk çağı kanser hastaları ile yapılan çalışmaların sonucunda akut ovaryan yetmezlik için en belirgin risk faktörü radyoterapi olarak belirlenmiştir (35, 151). Hastanın yaşı, RT'nin şekli ve dozu POY gelişimi için ana prognostik faktörlerdir (152). Direkt olarak pelvisin hedef alınmadığı ve bölünmüş dozlarda verilen RT protokolleri POY açısından daha az risk taşımaktadır (153). Wallace ve ark.'nın çalışmasında insanda primordiyal foliküller için median letal doz <4Gy (Gray) olarak bildirilmiş; sonrasında aynı grup tarafından yeni matematiksel modellemeler kullanılarak bu değer <2Gy'ye çekilmiştir.

2.1.5.4. Sigara ve virüsler

Geniş çaplı yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucunda sigaranın menapoz yaşını 1 ile 2 yıl öne çektiği bildirilmiştir (154). Günde yarım paketten başlayarak, sigaranın fertilité üzerindeki etkisi doz bağımlıdır. Sigara ovaryan fonksiyonu birçok farklı mekanizma ile etkilemektedir. Poliaromatik hidrokarbonların folikül gelişimini olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Nikotinin aromataz aktivitesini inhibe ederek östrojen sekresyonunun azalmasına yol açtığı gösterilmiştir (155). Sigara, primordiyal foliküllerde hasarlanmaya yol açarak; östrojenlerin hepatik metabolizmasını hızlandırarak ve hipotalamopituitar aks üzerine etki göstererek hormonal dengesizliğe de neden olmaktadır.

Gonadların hastalık sürecine dahil olduğu bazı enfeksiyöz hastalıklar da POY'a neden olabilir. Kadınlarda, adölesan dönem sonrasında geçirilen kabakulak enfeksiyonunun overleri tutma eğiliminde olduğu ve kabakulak geçiren kadınların %3-7'sinde POY gelişebileceği bildirilmiştir (156). Bu hastaların çoğunda enfeksiyonun iyileşmesini takiben ovaryan fonksiyonlar geri dönmektedir (157). Malarya, varisella ve shigella enfeksiyonlarını takiben gelişen POY vakaları bildirilmekle birlikte, bu enfeksiyonlarla POY arasında bir neden-sonuç ilişkisi kurulamamıştır (158).

Sitomegalovirüsün de immünsuprese hastalarda POY etkeni olabileceği bildirilmiştir (159).

2.1.5.5. POY ile ilişkili nadir genetik sendromlar

Tablo 2. Prematür Ovaryan Yetmezlik ile İlişkili Sendromlar (8)

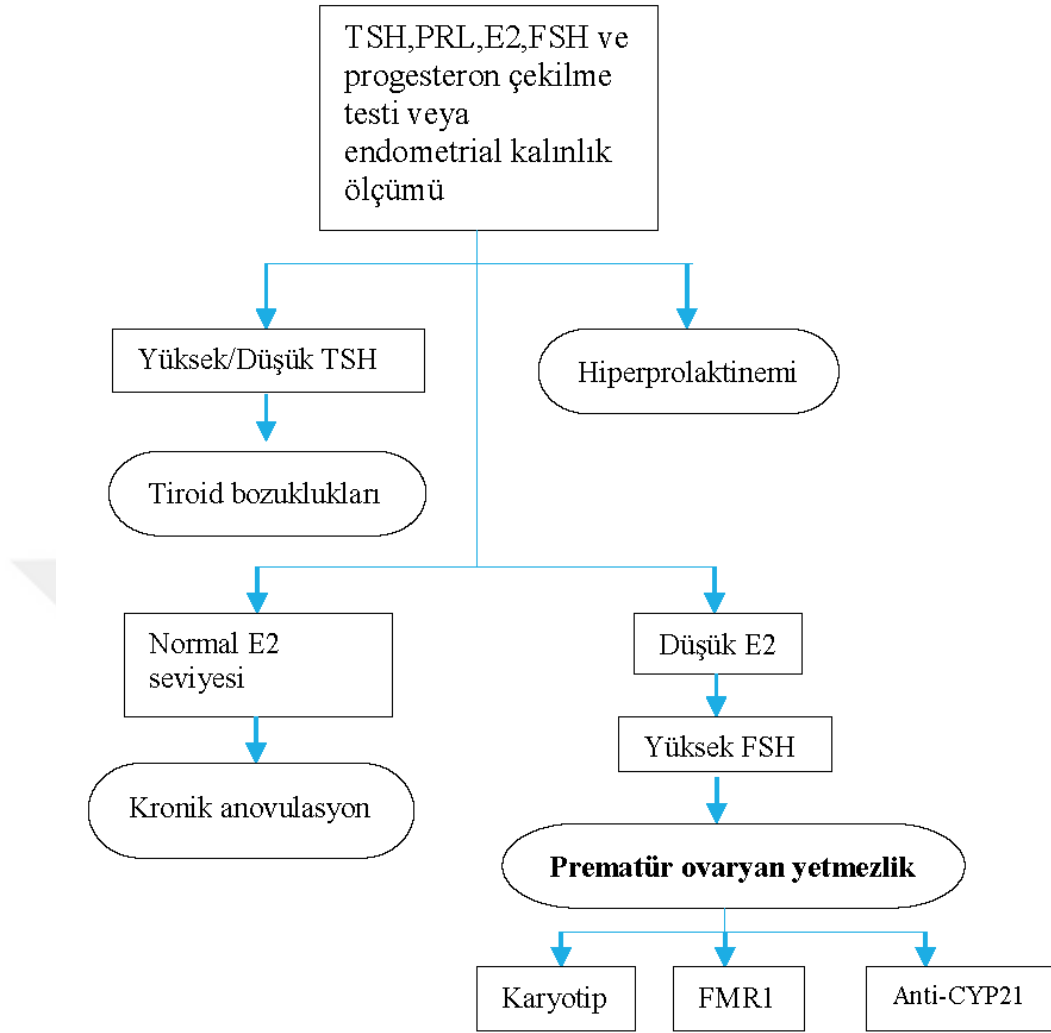
Sendrom	Gen	Klinik bulgular
Frajil X ile ilişkili bozukluklar	FMR1	Mental retardasyon ve ataksi-tremor
Otoimmün Poliendokrin Sendrom Tip1	AIRE	Adrenal yetmezlik, hipoparatiroidi, mukokutanöz kandidiazis
Otoimmün Poliendokrin Sendrom Tip2		Adrenal yetmezlik, Tip 1 Diyabet, otoimmün tiroid hastalıkları
Perrault Sendromu	HARS2 (Histidil tRNA Sentetaz)	Sensörinöral sağırılık, nörolojik defisit, mitokondriyal fonksiyon kaybı
17- α hidroksilaz eksikliği	CYP17A1(Cytochrome P450 family 17 subfamily A member)	Hipertansiyon, hipokalemik alkaloz
Lipoid konjenital adrenal hiperplazi	StAR	Konjenital adrenal yetmezlik
Aromataz eksikliği	CYP19A1	Plasental aromataz eksikliği nedeni ile maternal virilizasyon
BPES	FOXL2 (Forkhead Box)	Dismorfik göz kapakları
Mitokondriyal DNA delesyonu ile birlikte ilerleyici eksternal oftalmopleji	POLG (Polimeraz Gama)	Eksternal göz kas zayıflığı, egzersiz intoleransı
Galaktozemi	GALT	Hepatomegali, katarakt, mental retardasyon
Konjenital glikozilasyon defekti tip 1A	PMM2 (Fosfomannomutaz)	Neonatal ensefalopati, hipotoni, serebellar hipoplazi, retinitis pigmentosa
Fanconi Anemisi	FA (Fanconi anemisi)	Anemi, lökopeni, trombositopeni, kardiyak, renal ve dudak malformasyonları
Ataksi Telenjiektazi	ATM (ataksi telenjiektazi mutasyon)	İmmün defekt, erken yaşlanma
Bloom's Sendromu	BLM (Blomm's)	Gen instabilitesi, erken yaşlanma
Werner Sendromu	WRN(Werner)	Gen instabilitesi, erken yaşlanma

2.1.6. Tanı ve Tarama

Üç ay ve üzerinde menstrüasyon düzensizliği öyküsü olan hastalar, doktora ilk başvurduklarında POY tanısı açısından uygun değerlendirme ve incelemeyi hak etmektedirler. Bir kız çocuğunun 15 yaşında iken halen adet görmemesi (primer amenore) ya da adet gören bir kadında adetlerin 4 ay veya daha uzun süre ile kesilmesi (sekonder amenore) teşhis açısından şüphe uyandırmalıdır. Menstrüasyon aralığı 90 gün ve üzerinde olan ya da yıllık siklus sayısı dokuzun altında (oligomenore) olan her kadında tanıya yönelik inceleme başlatılmalıdır (160). Çünkü POY, primer amenore vakalarının %10- 28, sekonder amenore vakalarının ise %4-18'inin altta yatan nedenidir (1, 156).

Sekonder amenore ile başvuran hastalarda ilk olarak gebelik ekarte edilmelidir. Amenorenin yalnızca strese bağlanıp ileri inceleme yapılmaması uygun bir klinik yaklaşım değildir (161). Sekonder amenorenin birçok nedeni olmakla birlikte dört majör neden arasında; polikistik over sendromu (PKOS), hipotalamik amenore, hiperprolaktinemi ve POY bulunmaktadır.

Tanı amacıyla ilk olarak yapılması gereken laboratuvar testleri serum β -hCG, FSH, LH, östradiol, TSH ve PRL düzeyi ölçümelerini içermelidir (161). Menapozal düzeyde FSH tespit edilen hastalarda hipogonadizmi teyit etmek üzere 4-6 hafta sonra östradiol ve FSH ölçümü tekrarlanmalıdır (162). FSH ölçümleri hasta adet görüyorsa adet 3.günü, amenoreik ise herhangi bir zamanda bakılabilir.



Şekil 1. Anovulatuvar Hastaya Yaklaşım Algoritması (6)

AMH ve inhibin B seviye ölçümünün POY tanısı için kullanılmaları araştırılmaktadır. AMH menstrüel siklus boyunca stabildir. AMH'nın özellikle kemoterapi öncesi ve sonrası overi değerlendirmede, operasyon öncesi ve sonrası araştırmada, POY tanısında kullanımı hakkında çalışmalar mevcuttur (163). İnhibin B seviyeleri her menstrüel siklusta oldukça değişmektedir ve over fonksiyonunu göstermede zayıf olduğu için kullanımı önerilmemektedir (2).

Ovaryan fonksiyonları değerlendirmek için daha önce uygulanan progestin çekilme testi günümüzde önerilmemektedir. Progestin çekilme testi ile kanama görülen kadınların %50'si menapozal düzeyde FSH'ya sahiptir ve bu teste güvenerek yapılan hasta yönetimi, tanıda gereksiz gecikmeye neden olabilmektedir (29).

Tablo 3. Klinik Durum ile FSH ve LH Seviyelerinin İlişkisi (6)

Klinik durum	Serum FSH	Serum LH
Normal yetişkin kadın	5-20 IU/L	5-20 IU/L
Hipogonadotropik durum; prepubertal, hipotalamik ve pitüiter disfonksiyon	<5 IU/L	<5 IU/L
Hipergonadotropik durum; POY, postmenopozal durum	>20 IU/L	>40 IU/L

POY tanı kriterleri konusunda ortak bir konsensüs ve standardizasyon bulunmamaktadır. Genel kabul gören tanımlamada 40 yaşından önce düzenli olan menstrüel siklusun 4-6 ay kesilmesi veya düzensizliği (amenore-oligomenore) ile birlikte; bir ay ara ile bakılan FSH seviyelerinin menapozal değerlerde saptanmasıdır. ESHRE'nin 2016'da yayınladığı son kılavuzda tanı değeri için FSH >25IU/L olarak belirlenmiş, Speroff 8. baskıda ise FSH > 20 IU/L olarak belirlenmiştir (Tablo 3). Bu konuda da karar verilmiş net bir değer bulunmamaktadır. Östrojen seviyelerinin <50pg/mL olması hipoöstrojenik ortamı göstermektedir.

Tablo 4. Primer Ovaryan Yetmezlik Spektrumunun Klinik Özellikleri (4, 8)

Klinik özellik	Serum FSH seviyesi	Fertilite	Menstrüel siklus	AMH
Normal	Normal	Normal	Düzenli	Normal
Occult(gizli) POI/POY	Normal	Azalmış	Düzenli	Düşük
Aşık POY	Yüksek	Azalmış	Düzensiz veya yok	Düşük

Aşık ve gizli (occult) POY tanımlamaları hakkında güncel kriterler belirlenmiştir. Bu kriterler Tablo 4'te gösterilmektedir (8, 31, 92). Occult POY olan çoğu olguda siklusun 3.günü bakılan FSH değerleri > 10-15IU/L , eş zamanlı bakılan serum östradiol seviyesi $\geq$ 80pg/mL olarak saptanmaktadır ve bu durum azalmış fertiliteye işaret etmektedir (8, 92). Hastalarda azalmış ovaryan rezervi değerlendirmek amacıyla FSH ve östradiol ölçümlerine AMH düzeyi ve transvajinal ultrasonografi ile yapılan antral folikül ölçümleri eklenmelidir (164, 165).

POY tanısı konulduktan sonra herhangi bir sendromla ilişkisi yok ise ileri değerlendirme amacıyla yapılması gereken incelemeler; karyotip analizi, Frajil X premütasyon taraması, adrenal antikor taraması ve pelvik ultrasonografi yapılmasıdır

Primer amenore ile başvuran POY hastalarının yaklaşık %50'sinde karyotip anomalisi saptanmaktadır. Özellikle adölesan grupta bu risk daha belirgin olup çoğunlukla altta yatan neden gonadal disgenezi olmaktadır. Ancak hastaların büyük bölümünü oluşturan sekonder amenore ile başvuran grubun ise ancak %13'ünde karyotip anomalisi tespit edilmektedir (29). Bu da POY hastalarının büyük çoğunluğunun karyotipi normal, spontan 46,XX POY tanısı alacağı anlamına gelmektedir (54). Kromozomal analiz incelemesi tüm idiopatik POY hastalarında yapılmalıdır. Y kromozomu saptanan hastalarda mutlaka gonadektomi yapılmalıdır (166).

Frajl X premutasyon tarama testi mutlaka uygulanmalıdır. Spontan 46,XX POY olan hastaların %2'si, ailesel POY hastalarının %14'ünde FMR 1 premutasyonu saptanmaktadır (103). En önemli risk bu hastaların Frajl X sendromlu çocuk sahibi olma ihtimalidir. Hasta test öncesi detaylı bilgilendirilmeli ve testin pozitif çıkması durumunda danışmanlık verilmeli ve gebelik öncesi pre-implantasyon genetik tanının önemi vurgulanmalıdır.

Hastaların yaklaşık %50'sinde yıllar içerisinde ciddi adrenal yetmezlik gelişme riski vardır. Bu nedenle bazı otoriteler tarafından tüm POY hastalarına 21 hidrokortikosteroid veya alternatif adrenokortikal antikor taraması istenmesi önerilmektedir (135). ESHRE kılavuzunda ise nedeni bilinmeyen veya immün hastalık şüphesi olan hastaların taranmasının yeterli olduğu bildirilmiştir. Antikor taraması pozitif olan hastalar için Addison hastalığını ekarte etmek amacı ile endokrinoloji konsültasyonu istenmelidir. Bu hastalara başlangıç muayenesinde elimizde bazal değer olması amacı ile kortizol bakmak yeterlidir. İleri değerlendirme amacıyla ACTH (adrenokortikotropik hormon) serum kortizol stimülasyon testleri uygulanabilmektedir (167). Hastada antikor testi pozitif ise mutlaka yıllık tarama yapılmalıdır.

POY ile en sık birliktelik gösteren tiroid hastalıkları için de hastaların TSH ve tiroid antikor taramaları ile değerlendirilmesi önerilmektedir. Antikor pozitifliği durumunda yıllık TSH ile tarama önerilmektedir (130, 168).

Ovaryan antikorların özgüllüğü çok düşük olduğu için kullanımı önerilmemektedir (169). POY hastalarında ovaryan biyopsi hasta yönetiminde yardımcı olmadığı için kullanılmamaktadır. Yapılan bir çalışmada over biyopsisi

uygulanan bir hastada hiç folikül gösterilememesine rağmen işlem sonrası gebelik elde edilmiştir (170).

Transvajinal ultrasonografi yapıldığında %75 hastada antral folikül görülebilmektedir (13, 30, 171). Pelvik ultrasonografide otoimmün ooforite bağlı tipik olarak genişlemiş kistik overler görülmektedir (144, 172). Ayırıcı tanıda torsiyon ve 17-20 liyaz eksikliği de akla gelmelidir.

2.1.7. Klinik Değerlendirme

POY tanısı konulduktan sonraki en önemli basamak hastayı detaylı şekilde bilgilendirmektir. Bilgilendirme yapılırken hassas ve ilgili davranılması, acele edilmemesi gerekmektedir. POY, hasta için oldukça yıkıcı olabilen kabullenmesi zor bir tanıdır. Teşhisin hastaya aktarılma şekli hastanın hissedeceği ruhsal çöküntünün derecesini etkileyebilir. Son zamanlarda yapılan bir çalışma spontan POY tanısı alan hastaların %71'inin doktoru tarafından yapılan bilgilendirmeden tatmin olmadığını ortaya koymuştur (173). Hasta bilgilendirilirken %50-75 olasılıkla aralıklı ovüle olabileceği ve spontan gebelik şansı olduğu; bu yönleri ile menapoz sürecinden farklı olduğunun altı özellikle çizilmelidir.

ACOG önerisi doğrultusunda; hasta ve yakınları hastalığın fertilité üzerindeki etkisi ve komorbid durumlar hakkında bilgilendirilmeli, potansiyel genetik geçiş anlatılmalıdır. Tanı konduktan sonra hastaların destek amacıyla psikolojik konsültasyon için yönlendirilmeleri önerilmektedir. En azından yıllık takip altında olmaları gerektiği vurgulanmalıdır.

Klinik değerlendirmeye başlarken genetik nedenli POY hastaları diğer POY hastalarından ayrılmaya çalışılır. Bu amaçla amenore tarifleyen her hastadan ayrıntılı bir genel ve jinekolojik öykü alınır.

İatrojenik sebepler hastanın jinekolojik ve onkolojik hastalık öyküsü ve tedavi öyküsü sorgulanarak dışlanır. Gonadları etkileyebilecek KT ya da RT öyküsü iatrojenik POY'u düşündürür. Enfeksiyöz ve toksik ajanlara maruziyet öyküsü de sorgulanmalıdır.

Anamnezde sorgulanması gereken önemli bir başka husus aile öyküsüdür. Olguların %10-15'inde birinci derece akrabalarda POY saptanmaktadır (174). Ailede

erken menapoz öyküsü olanlar POY için artmış risk altındadır. Aile öyküsü olan hastalar otoimmün hastalıklar için mutlaka sorgulanmalıdır (8).

Menstrüel siklus değişiklikleri çoğu hastada ilk belirti olmaktadır. Hastalığa spesifik bir patern tanımlanmamıştır. Bunun nedeni hastaların %50-75'inde beklenmedik ve aralıklı ovaryan fonksiyona bağlı menstrüasyon görülebilesidir (8). Hastalarda normal puberte gelişimi ve POY tanısı konmadan önce düzenli menstrüel sikluslar görülmektedir. Genellikle oligomenore, polimenore veya disfonksiyonel uterin kanama ile seyreden bir prodrom dönemi olmaktadır. Nadiren menstrüel siklus aniden kesilir. Bazı hastalarda ise oral kontraseptif kullanımının bırakılması veya gebelik sonrasında adetlerin başlamaması görülebilmektedir (8).

Vazomotor semptomlar (sıcak basması, gece terlemesi), uyku bozukluğu, vajinal kuruluk, disparoni tüm hastalarda görülmemekle birlikte östrojen eksikliğine bağlı ortaya çıkabilen semptomlardır (8). Bazı hastalarda menstrüel düzensizlik ortaya çıkmadan görülebilmektedir. Hastaların fizik muayenesi çoğu zaman normal olmakla birlikte ek hastalıklara bağlı vitiligo, hiperpigmentasyon gibi adrenal yetmezlik bulguları veya tiroid büyümesi, Turner stigmaları görülebilmektedir. Spekulum muayenesi çoğunlukla doğal olmakla birlikte atrofik vajinite bağlı bulgular izlenebilmektedir.

2.1.8. Uzun dönem etkiler

POY'un uzun dönem etkilerini inceleyen az sayıda randomize kontrollü çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu gözlemseldir ve genel olarak cerrahi menapoz hastalarında yapılmıştır. Komplikasyonlar hastalığın nedenine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Esas problem östrojen seviyelerinin düşmesi ve hipoöstrojenik ortama bağlı, östrojenin kadınlar üzerindeki koruyucu etkisinin ortadan kalmasıdır. Hastalığın uzun dönem komplikasyonlarında en önemli risk faktörü östrojen eksikliğinin başlangıç yaşı olarak belirtilmektedir (175).

2.1.8.1. Yaşam beklentisi

Yaklaşık 20.000 kadını içeren geniş, prospektif bir kohort çalışmada 40 yaşından önce ve 50-54 yaşları arasında menapoza girmiş kadınlar karşılaştırılmış, tüm

nedenlere bağlı mortalitenin 40 yaş altı menapoz grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve yaşam süresinin 2 yıl daha kısa olduğu saptanmıştır (176).

2.1.8.2. Kemik sağlığı

Östrojen kemik yapılanma sürecinde etkin bir rol oynamaktadır. Hipoöstrojenik ortam osteoklast aktivitesini arttırarak progresif trabeküler kemik kaybına neden olmaktadır (177). POY hastaları hipoöstrojenik ortama bağlı genel popölasyona kıyasla azalmış kemik mineral dansitesine sahiptir. Bu nedenle ileri yaşlarda ciddi kırık riski artmıştır. 2011 yılında 32 POY hastasını içeren bir çalışmada benzer yaş grubu ile karşılaştırıldığında, POY hastalarında osteoporoz sıklığının ve şiddetinin hem premenapozal hem de fizyolojik yaşta menapoza girmiş postmenapozal hastalardan daha yüksek olduğunu bildirilmiştir (178).

Maksimum kemik dansitesine yirmili yaşların ortalarına doğru ulaşıldığı düşünölmektedir. POY hastalarında maksimum kemik dansitesine ulaşamadan östrojen seviyelerinin düşmeye başladığı tahmin edilmekte ve bu nedenle osteoporoz riski ve şiddeti daha büyük olmaktadır (175).

Tanı konduktan sonra hastalar osteoporoz riskleri hakkında bilgilendirilmeli ve tarama programına alınmalıdır. POY tanısı alan tüm hastalarda özellikle risk faktörü olanlarda kemik mineral dansitesi (KMD) ölçölmesi önerilmektedir (179). Eğer KMD ölçölümü normal sınırlarda ve hasta yeterli tedavi alıyorsa DEXA (dual enerji x – ray absorpsiyometri)’nın tekrarlanmasına gerek duyulmamaktadır. Osteoporoz tanısı konduysa taramanın 5 yılda bir tekrar edilmesi önerilmektedir (5).

Hormon replasmanı dışında hastalar ağırlığa dayalı egzersiz, kalsiyumdan zengin diyet konusunda bilinçlendirilmeli, kalsiyum ve vitamin D ile desteklenmelidir. POY hastalarına spesifik bir yaklaşım bulunmamakla beraber NAMS tarafından perimenapozal ve postmenapozal hastalar için önerilen günlük 1200 mg elemental kalsiyum alımı ve serum 25-hidroksi vitamin D seviyesinin 30 ng/ml ve üzerinde olacak şekilde yeterli vitamin D alınması hususları POY hasta gurubunda da hedef alınmalıdır (180).

2.1.8.3. Kalp Sağlığı

POY hastalarının endotel fonksiyonlarının ateroskleroza zemin hazırlayacak biçimde bozulduğu gösterilmiştir (181). Azalan endojen östrojenin, lipid profilini olumsuz etkilediği (trigliseridlerde artma, HDL (high density lipoprotein) kolesterolde azalma) bildirilmiştir (182). Kırk yaşından önce menapoza giren hastalarla 49-55 yaş arasında menapoza giren hastalar karşılaştırıldıklarında erken menapoz grubunda kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite riskinde %80 artış olduğu bildirilmiştir (183). Aynı çalışmada 45 yaşından önce ooferektomi yapılan ve HRT kullanmayan hastalarda kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite riskinin anlamlı biçimde yükseldiği ve östrojen replasmanının riski azaltabileceği bildirilmiştir.

POY tanısı alan kadınların başlangıç muayenesinde kardiyovasküler hastalık riski için değerlendirilmesi gerekmektedir. Özellikle kan basıncı, kilo ve sigara içme durumu sorgulanmalı ve yıllık takiplerinin yapılması önerilmektedir.

2.1.8.4. Emosyonel Durum

POY tanısı genel iyilik durumu ve psikoloji üzerinde negatif etkiye sahiptir. POY tanısı alan hastalarda negatif bir benlik algısı ve izolasyon nedeni ile sessiz bir keder tablosu görülebilmektedir. Çoğu kadın için beklenmeyen infertilite haberi yaşam değiştiricidir (184). POY tanısı alan hastalar normal popülasyona göre daha utangaç, sosyal anksiyeteye eğilimli ve kendine güveni zedelenmiş durumdadır (185, 186). Çoğu kadın emosyonel stres yaşamakta ve stresle baş etmek için yardıma ihtiyaç duymasına rağmen bunu çok az kısmı direkt talep etmektedir. Tanı konduktan sonra hasta tekrar çağırılmalı ve duygusal destek için değerlendirilmesi önerilmektedir (186). Bazı genç hastalar POY tanısını yanlış yorumlayıp menopoza girdiklerini düşünüp ‘bir gecede yaşlanmak’ olarak tanımlamıştır (187). Ayrıca POY hastalarında östrojen eksikliği nedeni ile bilişsel fonksiyonların etkilendiği düşünülmektedir.

2.1.8.5. Cinsel Sağlık

POY hastalarında; azalmış uyarım, azalmış cinsel ilişki ve artmış ağrı hissine bağlı cinsel tatminin azaldığı gösterilmiştir (188). Daha genç yaşta tanı alan hastalarda psikoseksüel bozukluklar daha fazla görülmektedir (189). Yapılan çalışmalarda normal cinsel fonksiyon için gerekli olan androjen sentezinin POY hastalarında

ovaryan korteks kaybına bağılı anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir (190, 191). POY hastalarında seksüel disfonksiyona yaklaşımda, hastaya yeterli östrojen ve androjen replasmanının yanında cinsel danışmanlık desteğı de verilmelidir.

2.2. ENDOKAN

2.2.1. Yapısı

Proteoglikan (PG) ailesi; ana protein yapıya kovalent bağı ile bağlanmış glikozaminoglikan zincirlerinden oluşan yapılardır. Endokan (ESM-1) 50 kDa moleküler ağırlığa sahip başlıca vasküler endotel hücrelerinden salınan çözünebilir bir proteoglikandır (19). İlk olarak 1996'da Lassalle ve ark. tarafından umbilikal ven endotel hücrelerinin cDNA'sı klonlanarak tanımlanmıştır. 5. kromozom üzerinde 5q11.2 lokasyonunda yerleşmiş bir gen ürünü olup 2 intron ile ayrılmış 3 ekzondan oluşmaktadır (20).

Endokan yapısı 165 amino asitten oluşan protein zincire bağılı sakkarid zincirden oluşmaktadır. Endokanın PG ailesinden farklı olarak posttranslasyonel modifikasyon aşamasında eklenen 137. amino asit olan serine bağılı tekli dermatan sülfat yan zincirine sahip olduğu bildirilmiştir (22). Ayrıca endokan hücrelere yapısal destek sağılayan ekstraselüler matriks bileşinlerinden farklı olarak salgılayıcı bir moleküldür (192).

Başlangıçta endokan ekspresyonunun sadece akciğer dokusu ile sınırlı olduğu düşünülse de sonraki çalışmalarda endotel hücre kültüründe, cilt ve yağ dokusunun mikrovasküler düzeyinde, pulmoner ve koroner arterde salınımı olduğu bildirilmiştir (193).

2.2.2. Fizyolojik Özellikleri

Endotel hücreleri doku ve organ fonksiyonunda dinamik bir rol oynamaktadır. Çözünebilir mediatörler ve yüzey proteinleri ile vasküler tonus ve geçirgenliği kontrol etmekte ayrıca koagülasyon ve trombozu düzenlemektedir (194). Endokan endotel bağımlı patolojik süreçlerde potansiyel yeni bir biyobelirteçtir. Endokanın aterosklerotik süreçlerin patogeneğinde yer aldığı düşünülmektedir. Çalışmalarda endokanın hücre adezyon, migrasyon, proliferasyon ve vasküler permeabilite gibi

biyolojik olaylarda düzenleyici olarak rol oynadığı gösterilmiştir (195). Endokan sağlıklı kişilerin dolaşımında da bulunmaktadır (196).

Güncel araştırmalar endokanın inflamasyon, neovaskülarizasyon ve tümör oluşumunda anahtar role sahip olduğunu göstermiştir (21, 22). Endokan hem sağlıklı hem anormal vasküler hücre gelişiminde rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda endotel inflamasyonu durumunda serum endokan seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (22). İnflamasyon; vazodilatasyon, ödem, iskemi ve organ yetmezliğine yol açabilen endotel disfonksiyonuna yol açmaktadır. Endokan düzeyleri inflamasyonun varlığı, derecesi ve tedaviye cevabı ile ilişkili olarak saptanmıştır (195).

Endokan salınımını kontrol eden mekanizmalar tam olarak bilinmemekle birlikte son yıllarda yapılan araştırmalar sonucunda düzenleyici bir sinyal yolağı olduğu ve biyoaktif mediatörlerin aracı olarak görev yaptığı saptanmıştır. $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ (İnterlökin 1β), FGF-2 (fibroblast growth faktör 2), VEGF-A (vasküler endotelial büyüme faktörü A), VEGF-C, TGF- β (transforming growth faktör beta), ve PI3K (fosfoditilinositol 3-kinaz) ile endokan salınımı artmakta iken, IFN- δ (interferon gama) tarafından inhibe edilmektedir (20, 21, 23, 24).

Endokan ICAM-1 (interselüler adezyon molekül 1) ile yarışarak onun lökosit yüzeyinde yer alan LFA-1'e (lökosit fonksiyonuyla ilişkili antijen 1) bağlanmasını engellemektedir. Bu durum sonucunda damar duvarında lökosit adezyonu engellenmektedir. Endokanın bu özelliği ile aterosklerotik olaylardan koruyucu olduğu düşünülmektedir (197, 198).

İnflamasyona bağlı veya malign süreçlerde ortaya çıkan neovaskülarizasyon durumunda serum endokan seviyelerinde artış görülmüş olup malign hücrelerden endokan eksprese edildiği gösterilmiştir (199). İn-vitro çalışmalarda endokanın, endotel hücreleri, embriyonik böbrek hücresi ve hepatosit büyüme faktörü üzerinde mitojenik etki gösteren VEGF'in etkisini arttırdığı gözlenmiştir (24, 198, 200). Bu çalışmaların verilerine dayanarak endokanın hücre proliferasyonunda görev alan mediatörlerle bağlantılı olduğu ve damar duvar yapımı ve tümör progresyonunda oldukça önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Aktive olmuş inflamatuvar endotel hücrelerinde ise endokan mRNA seviyeleri oldukça yüksek bulunmaktadır (22). Son yapılan mikroyarray analiz çalışması endokan sekresyonunun dinlenme halinde olan vasküler endotel hücrelerinde oldukça düşük

seviyelerde iken anjiogenez sürecinde oldukça yüksek seviyelere çıktığını göstermektedir (201).

Tümör gelişiminde en kritik basamaklardan biri anjiogenez sürecidir. Anjiogenez sırasında tümör hücreleri VEGF salınımını arttırarak oksijen desteğinin devamını sağlamaktadır. Endokan VEGF sekresyonunu arttırmak suretiyle tümör gelişiminde oldukça kritik bir rol oynamaktadır (195). Tümör hücreleri kendilerini farklılaştırarak damar yapısını taklit edebilmektedir (202). Endokan bu farklılaşma sürecine aracılık etmektedir. Bazı yazarlar endokanın prostat, over, mesane ve meme kanseri oluşum sürecinde bu mekanizma ile rol oynadığını bildirmişlerdir (21).

Endokan kan ve doku merkezli bir biyokimyasal belirteçtir. Endokan mRNA seviyeleri ESM-1 gen ekspresyon düzeyini in vivo ve in vitro tahmin etmeyi sağlamaktadır. İmmunohistokimyasal teknikler ile çeşitli kanser vakalarında araştırılmış olup sonradan kanda dolaşan endokan seviyelerini ölçmek amacı ile ELISA kitleri oluşturulmuştur (23, 198).

2.2.3. İlişkili Olduğu Klinik Durumlar

Yapılan çalışmalar ile çeşitli hastalıklarda serumda yükselmiş endokan seviyeleri saptanmıştır. Bunlar arasında; Tip 2 Diyabetes Mellitus (203), obstrüktif uyku apnesi (204), hipertansiyon (205), akut miyokardial infarktüs (206), Behçet hastalığı (207), pre-eklampsi (208), sepsis (209), sarkoidoz ve sistemik lupus eritematozus gibi inflamatuvar hastalıklar bulunmaktadır (210, 211). Özellikle akciğer hastalıklarında diagnostik ve prognostik belirteç olarak kullanılmaktadır (212).

Glioblastom veya liposarkom gibi yüksek derecede vasküler içeriği olan tümörlerde 30 kat artmış endokan gen ekspresyonu saptanmaktadır (213). Çalışmalar kolon, karaciğer, akciğer, beyin, böbrek ve pitüiter bez gibi yoğun kanlanan tümörlerde endokan salınımının yüksek olduğunu göstermiştir (21, 23, 214). Endometrial ve over kanseri olan hastalar ile yapılan bir çalışmada endokan seviyeleri yüksek olarak saptanmıştır (215).

Endokan salınımı inflamatuvar hastalıkların derecesi ile ilişkili olduğu gibi aynı zamanda hastaların kardiyovasküler ve metabolik risk durumunu da gösterebilmektedir . Yapılan çalışmalar göstermektedir ki endokan patogeneizde inflamatuvar süreçlerin yer aldığı hastalıkların tedavi sürecinde potansiyel öneme

sahiptir (196, 216). Endokan sinyal yolağı antianjiogenik tedavi için bir hedef sağlamaktadır. Ayrıca tedavi sürecinde hasta seçimi ve tedavi izleminde oldukça yarar sağlayacağı düşünülmektedir (195).



3. MATERİYAL ve METOD

3.1. YÖNTEM

14 Temmuz 2018 ve 31 Aralık 2018 tarihleri arasında SBÜ Ankara Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Reprodüktif Endokrinoloji Kliniği'ne başvuran 34 POY tanısı konulan hasta ile yaş ve vücut kitle indeksi (VKİ) ortalaması benzer kontrasepsiyon istemi ile Aile Planlaması Kliniği'ne başvuran 34 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Çalışmamız için hastanemiz 21 sayı numaralı Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu kararı ve 07.11.2017 tarihli 137 sayı numaralı Etik Kurul kararı onayı alındı (EK-1). Çalışmaya dahil edilecek tüm hastaların bilgilendirilmesi yapıldı ve hastaların gönüllülükleri esas alınarak onamları alındı. Çalışma Helsinki Bildirgesinin son ilkeleri dikkate alınarak yürütüldü.

Prematür ovaryan yetmezlik (POY) tanısı; ESHRE kriterleri ve Speroff 8. baskı POY tanımlamasına göre; 40 yaşından genç, ardışık 4 siklus menstrüel düzensizlik (oligomenore veya amenore) öyküsü ve bir ay ara ile bakılan FSH değerleri $> 20\text{IU/L}$ üzerinde olması kriterleri göz önüne alınarak konuldu (5, 6). Kırk beş günün üzerindeki menstrüel sikluslar oligomenore, ardışık 3 siklusa menstrüasyon olmaması ise amenore olarak kabul edildi.

Hastalar ile ilk görüşmede detaylı anamnezleri alındı ve aile öyküleri sorgulandı. Çalışmaya dahil edilen altmış sekiz hastanın tümünün demografik özellikleri; yaş, boy, kilo ve kronik hastalık, geçirilmiş operasyon, menstrüel düzensizlik varlığı ve süresi, sigara kullanımı, kemoterapi-radyoterapi öyküsü ile obstetrik öyküsü (gravida, parite, yaşayan) sorgulandı. POY hastalarının tümü spontan 46,XX karyotipe sahip popülasyondan oluşmaktadır. POY tanısı alan hasta grubunda ek olarak infertilite şikayetleri ve yardımcı üreme tekniği kullanılıp kullanılmadığı sorgulandı. Endokrin patolojisi olan, over rezervini etkileyecek tümörü veya ovaryan kisti olan, VKİ >30 olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol grubu sağlıklı gönüllü, 40 yaş altı, fertil, düzenli menstrüel siklusu olan, ek hastalığı olmayan, ilaç kullanımı olmayan, kontrasepsiyon amacı ile Aile Planlaması Kliniği'ne başvuran popülasyondan seçildi.

Amenoreik olan hastalardan herhangi bir zamanda, menstrüel siklus gören hastalardan ise menstrüel siklusun ilk üç günü içerisinde serum bazal FSH, LH,

östradiol, AMH, TSH ve PRL seviyeleri için bir tüp, endokan seviyesi için antikoagülan içermeyen bir tüpe antekübital venöz kan örnekleri alındı. Endokan seviyelerini ölçmek için alınan serum örnekleri öncelikle yarım saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra +4 derecede 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Serum endokan parametresi için ayrılan örnekler -80°C'de çalışma gününe kadar saklandı.

Serum endokan düzeyi, sandviç immunassay (Enzyme-linked immunosorbent assay) ELISA yöntemi ile çalışan Endokan (Endothelial cell specific molecule 1 (ESM1) (ENDOCAN) Human Elisa Kit/96 test/ Cloud Clone Wuhan USCN Business Co., Ltd.) kiti kullanılarak ölçüldü. 1.0 mL olan standart seyreltici ile standart sulandırıldı ve 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Testin çalışma şekli ve prensibi kısaca şu şekildedir; konsantrasyonu 2.0000 pg/mL stok standarttan dilüsyon ile diğer standartlar hazırlandı. (1.000;500;250;125;62,5;31,2;15,6;0 pg/mL) Önerilen 10 kat dilüsyon, 20µL Numune + 180µL PBS'ye uygun şekilde numuneler hazırlandı. (pH=7,0-7,2). Human endokan antikorlu ile kaplanmış kuyucuklara, standart ve serum örneklerinden 100'er µL konulduktan sonra üzeri kapatılarak 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında her bir kuyucuğa öncelikle 100'er µL kromojen solüsyonu A eklendi ve 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda kuyucukların tamamı, yıkama tamponu ve ELISA yıkayıcısı kullanılarak 3'er kez yıkandı. Sonrasında her bir kuyucuğa 100'er µL kromojen solüsyonu B eklenip, üzeri kapatılarak karanlık ortamda ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Tüm kuyucuklar, yıkama tamponu ve ELISA yıkayıcısı kullanılarak 5'er kez yıkandıktan sonra 90 µL substrat solüsyonu eklenip karanlık ortamda 10-20 dakika 37°C'de bekletildi. Her bir kuyucuğa 50'er µL asidik solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu. 18 Reaksiyon sonunda meydana gelen sarı rengin absorbansı, yarı otomatik ELISA okuyucusunda ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorbanslar endokan konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart endokan konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart (kalibrasyon) eğrisi çizildi. Bu standart eğri kullanılarak numunelerin endokan konsantrasyonları pg/mL cinsinden hesaplandı. Kit föyünde belirtilen ölçüm aralığı 15,6-1.000 pg/mL idi. 15,6 pg/mL tespit limitinin altındaki değerler '0' olarak kabul edildi. Belirlenebilir minimum ESM1 dozu tipik olarak 6,2 pg/mL olarak belirlenmiştir. Bu test, ESM1'in tespiti için yüksek hassasiyete ve

mükemmel özgülüğe sahiptir. Test içi hassasiyet oranı (intra-assay CV) <%10, testler arası hassasiyet (inter-assay CV) <%12 olarak belirlenmiştir.

3.2. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

İstatistiksel analiz SPSS (Statistical Programme Social Sciences) 22.0 (IBM SPSS Statistics 22, SPSS Inc., Somers, NY, USA) paket programı ile yapıldı.

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ve Shapiro-Wilk testi dikkate alınarak incelendi. Normal dağılıma sahip değişkenlerin analizinde parametrik yöntemler kullanıldı. Normal dağılıma sahip olmayan değişkenlerin analizi için non parametrik yöntemler kullanıldı. Bu yöntemler kullanılarak istatistiksel analizi yapılan gruplara ait normal dağılım gösteren sayısal veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Normal dağılmayan verilerde medyan (min-maks) değerleri verildi. Bağımsız iki grup arasındaki farkı saptamak için normal dağılan verilerde Student t test, normal dağılmayan verilerde ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik veriler sayı (n) ve yüzde (%) olarak gösterildi. Bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Pearson ki kare ve Fisher exact testi kullanıldı. Değişkenlerin birbiriyle olan korelasyonlarını incelemek için ise Spearman korelasyon katsayısı kullanıldı. Serum endokan düzeyi seviyesinin POY varlığını tanımlamadaki gücü için ROC analizi uygulandı. Veriler %95 güven düzeyinde incelenmiş olup p değeri 0,05 ten küçük anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Araştırmaya dahil edilen 68 olgunun 34'ü prematür ovaryan yetmezlik tanısına sahip iken 34'ü sağlıklı bireylerden oluşturuldu. Araştırmaya dahil edilen kadınlarda prematür ovaryan yetmezlik görülen hastaların yaşı ortalama $33,74 \pm 5,66$ iken , kontrol grubunun ortalaması ise $32,09 \pm 5,48$ idi. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). POY grubu ve kontrol grubu VKİ bakımından benzerdi ($p > 0,05$). Prematür ovaryan yetmezlik grubunda VKİ $23,58 \pm 3,02$, kontrol grubunda $24,02 \pm 3,18$ olarak saptandı.

Prematür ovaryan yetmezlik görülen hastalarda sigara kullanımı %29,4 olarak, kontrol grubunda ise %38,2 olarak saptandı. Her iki grup arasında sigara kullanımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$). Tablo 5'de her iki grubun demografik özellikleri gösterilmektedir.

Tablo 5. Çalışmaya Dahil Edilen Grupların Demografik Özellikleri

	POY Grubu	Kontrol Grubu	p değeri
Yaş (yıl)	$33,74 \pm 5,66$	$32,09 \pm 5,48$	0,227
VKİ (kg/m ²)	$23,58 \pm 3,02$	$24,02 \pm 3,18$	0,560
Sigara kullanımı	10 (%29,4)	13 (%38,2)	0,442
Aile Öyküsü	6 (%17,6)	-	0,010
Gravida	$1,08 \pm 0,66$	$2,17 \pm 1,12$	<0,001
Parite	$0,79 \pm 0,33$	$1,91 \pm 1,05$	<0,001
Yaşayan	$0,76 \pm 0,30$	$1,88 \pm 1,02$	<0,001
Oligomenore	10(%29,4)	-	-
Amenore	24(%70,6)	-	-

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma; sayı (%) olarak gösterilmiştir.

POY: Prematür Ovaryan Yetmezlik

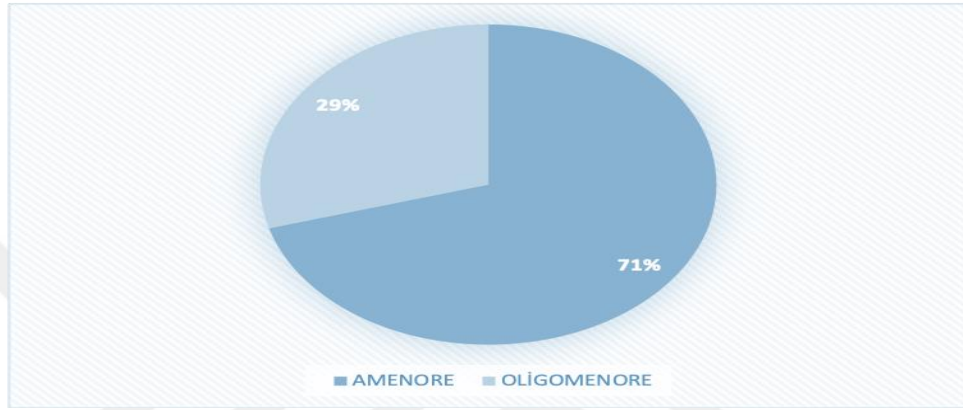
VKİ: Vücut Kitle İndeksi

$p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

Prematür ovaryan yetmezliğe sahip hastaların %17,6'sında aile öyküsü saptanmış iken kontrol grubundaki hiçbir hastanın ailesinde prematür ovaryan yetmezliğe sahip birey olmadığı görüldü. Gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**$p:0,025$**).

Araştırmaya dahil edilen prematür ovaryan yetmezliğine sahip hastalar ve sağlıklı bireylerin obstetrik özellikleri; gebelik sayısı (gravida), doğumla sonlanan gebelik sayısı (parite) ve yaşayan sayısı verileri Tablo 5'de ayrıntılı özetlenmektedir.

Prematür ovaryan yetmezliğe sahip hastaların gravida ortalaması $1,08 \pm 0,66$ iken, kontrol grubunda $2,17 \pm 1,12$ idi. Parite ise POY hastalarında ortalama $0,79 \pm 0,33$ iken kontrol grubunda $1,91 \pm 1,05$ idi. Yaşayan sayısı ise POY grubunda ortalama $0,76 \pm 0,30$ iken kontrol grubunda $1,88 \pm 1,02$ olarak bulundu. Tüm veriler POY grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük saptandı ($p < 0,001$).



Şekil 2. POY Grubunda Menstrüel Düzensizlik (Oligomenore-Amenore) Yüzdeleri

Prematür ovaryan yetmezlik görülen kadınların %70,6'sında amenore, %29,4'ünde ise oligomenore saptandı. Kadınların menstrüel siklus bozukluk sürelerinin ortalaması 12 ay olarak bulundu (Şekil 2).

Tablo 6. Çalışma Gruplarının FSH, LH, AMH ve Östradiol Seviyelerinin Karşılaştırması

	POY Grubu	Kontrol Grubu	p değeri
	Ortalama±Standart Sapma	Ortalama±Standart Sapma	
FSH(mIU/mL)	58,52±12,83	5,14± 2,08	<0,001
LH (mIU/mL)	28,56 ±8,66	6,38 ± 2,45	<0,001
AMH (ng/mL)	0,019±0,006	2,02±0,03	<0,001
Östradiol (pg/mL)	17,53±3,02	84,54±24,87	<0,001

Veriler ortalama±standart sapma olarak gösterilmiştir.

POY:Prematür Ovaryan Yetmezlik

FSH:Folikül Stimulan Hormon

LH:Luteinizan Hormon

AMH:Anti-müllerian Hormon

$p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 6’da POY grubu ile kontrol grubu arasında FSH, LH, AMH ve östradiol seviyelerinin karşılaştırılması detaylı gösterilmektedir. Araştırmaya dahil edilen kadınlarda prematür ovaryan yetmezlik görülen hastaların FSH değerlerinin ortalaması $58,52 \pm 12,83$ olarak bulundu, kontrol grubunda ise FSH değerleri ortalaması $5,14 \pm 2,08$ idi. POY grubunda FSH değerleri daha yüksek olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Prematür ovaryan yetmezlik görülen hastalarda LH değeri ortalama $28,56 \pm 8,66$ iken kontrol grubunda $6,38 \pm 2,45$ olarak saptandı. POY grubunda LH seviyeleri daha yüksek bulunmuş olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,001$). Prematür ovaryan yetmezlik görülen hastalarda AMH değeri ortalama $0,019 \pm 0,006$ iken kontrol grubunda bu değer $2,02 \pm 0,03$ olarak saptandı. POY grubunda AMH seviyeleri daha düşük bulunmuş olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,001$). Serum östradiol seviyeleri POY grubunda ortalama $17,53 \pm 3,02$ olarak, kontrol grubunda ise $84,54 \pm 24,87$ olarak saptandı. POY grubundaki hastaların serum östradiol düzeyleri daha düşük olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p < 0,001$).

Tablo 7. Çalışma Gruplarının Serum Endokan Seviyelerinin Karşılaştırması

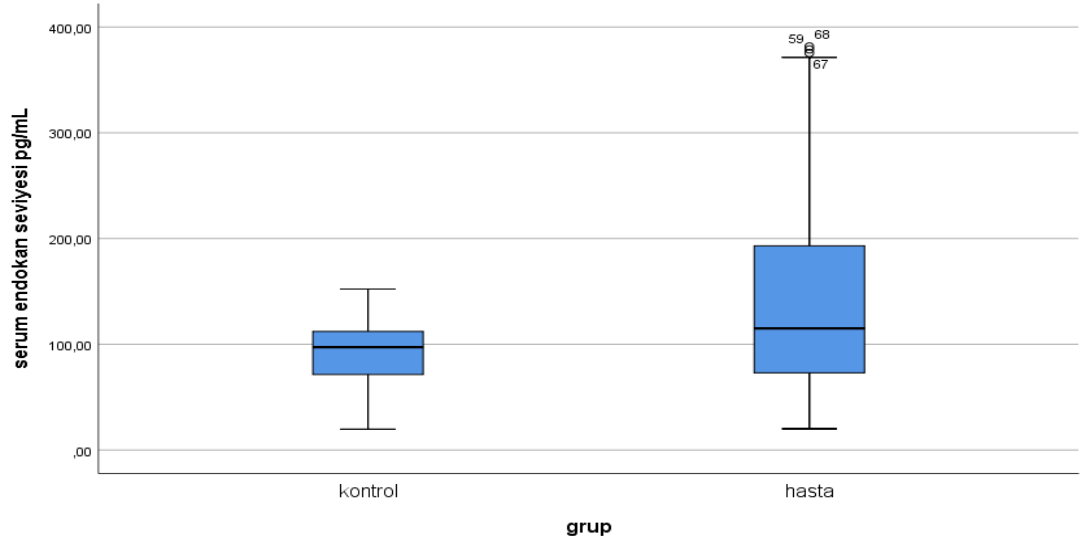
	POY Grubu	Kontrol Grubu	p değeri
	Medyan (Min-Maks)	Medyan (Min-Maks)	
Serum Endokan Düzeyi pg/mL	114,94 (20,11-381,55)	97,22 (19,75-152,16)	0,04

Veriler medyan (min-maks) olarak gösterilmiştir.

POY: prematür ovaryan yetmezlik

$p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 7 ve Şekil 3’te çalışmaya dahil edilen hastalar arasında serum endokan seviyelerinin karşılaştırılması gösterilmektedir. POY grubu serum endokan seviyesi medyan(ortanca) değeri 114,94 (20,11-381,55) pg/mL olarak tespit edildi. Kontrol grubunda ise serum endokan seviyesi medyan değeri 97,22 (19,75-152,16) pg/mL olarak saptandı. Serum endokan seviyesi POY grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p = 0,04$).



Şekil 3. Çalışma Grupları Arasında Serum Endokan Seviyelerinin Karşılaştırılması

Prematür ovaryan yetmezlik görülen 34 hastanın 12'sinde çocuk istemi mevcut idi. 12 hastanın 6'sının değerleri uygun aralıkta olup IVF tedavi protokolüne kabul edilmiştir. 6 hastanın 3'ünde 2 kez deneme, geri kalan 3 hastada ise 3 kez deneme yapılmıştır. Toplam 15 siklusa 8 kez embriyo transfer aşamasına gelinmiş ancak transferlerin hiçbiri gebelik ile sonuçlanmamıştır.

Tablo 8. Serum Endokan Seviyesi ile Sigara Kullanımı Arasındaki İlişkinin Analizi

Serum endokan seviyesi pg/mL	Sigara Kullananlar		Sigara Kullanmayanlar		p
		Medyan (Min-Maks)		Medyan(Min-Maks)	
POY Grup (n:10/24)		128,66 (52,51-381,55)		105,15(20,11-378,79)	0,316
Kontrol Grubu (n:13/21)		100,41 (44,90-121,09)		94,03(19,75-152,16)	0,712

Veriler medyan (min-maks) olarak gösterilmiştir.

POY: prematür ovaryan yetmezlik

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 8'de serum endokan seviyeleri ile sigara kullanımı arasındaki ilişkinin analizi gösterilmektedir. POY grubunda sigara kullanan 10 hastanın serum endokan seviyesi medyan değeri 128,66 (52,51-381,55) pg/mL olarak saptandı. POY grubunda sigara kullanmayan 24 hastanın medyan değeri ise 105,15 (20,11-378,79) pg/mL bulundu. Sigara kullanan grupta serum endokan seviyeleri daha yüksek bulunmasına

rağmen bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p=0,316$). Kontrol grubunda sigara içen 13 hastanın serum endokan seviyesi ortalama değeri 100,41 (44,90-121,09) pg/mL, sigara içmeyen 21 hastanın serum endokan seviyesi ortalama değeri ise 94,03 (19,75-152,16) pg/mL olarak saptandı. Gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,712$).

Tablo 9. Prematür Ovaryan Yetmezlik Görülen Olguların FMR1 Premutasyon Varlığına Göre Dağılımı

POY grup	n	%
	34	100
FMR1 Premutasyon	2	5,8
Normal	32	94,2

Veriler sayı (n), yüzde (%) ile gösterilmiştir.

Prematür ovaryan yetmezlik görülen kadınların genetik sonuçları incelendiğinde %5,8’inde FMR1 premutasyonu olduğu bulundu. POY grubunun %94,2’sinde ise FMR 1 mutasyon saptanmadı (Tablo 9). POY hastalarının tamamı spontan 46,XX karyotipe sahipti.

Çalışmaya dahil edilen 68 hastanın serum endokan düzeyleri ile demografik verileri (yaş, VKİ) ve serum FSH, LH, AMH ve Östradiol seviyeleri arasındaki korelasyon değerleri Tablo 10’da gösterilmektedir. Yaş ve VKİ parametreleri ile endokan düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 10. Çalışma Grubunda Serum Endokan Seviyesi ile Yaş, VKİ, AMH ve Bazal Hormonlar (FSH,LH ve Östradiol) Arasındaki Korelasyon Analizi

endokan seviyesi	n	r	p
Yaş	68	-0,029	0,816
VKİ	68	-0,082	0,508
FSH *	68	0,325	0,007
LH *	68	0,223	0,068
AMH *	68	-0,393	0,022
Östradiol *	68	-0,710	0,568

Veriler sayı (n) ile gösterilmiştir.

r=Pearson korelasyon katsayısı

*r=Spearman korelasyon katsayısı

VKİ:vücut kitle indeksi

FSH:folikül stimulan hormon

LH: luteinizan hormon

AMH:anti-mülleryan hormon

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

FSH düzeyleri ile serum endokan düzeyleri arasında pozitif yönlü bir korelasyon saptandı ve bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,007**). AMH düzeyleri ile serum endokan seviyeleri arasında ise negatif yönlü bir korelasyon saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,022**). LH ve Östradiol seviyeleri ile serum endokan düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamadı (p>0,05).

Tablo 11. Serum Endokan Seviyesi ile FSH ve AMH Korelasyonu

	n	r	p
FSH			
POY grup	34	0,149	0,029
Kontrol grup	34	0,140	0,429
AMH			
POY grup	34	-0,367	0,033
Kontrol grup	34	-0,236	0,179

Veriler sayı (n) ile gösterilmiştir.

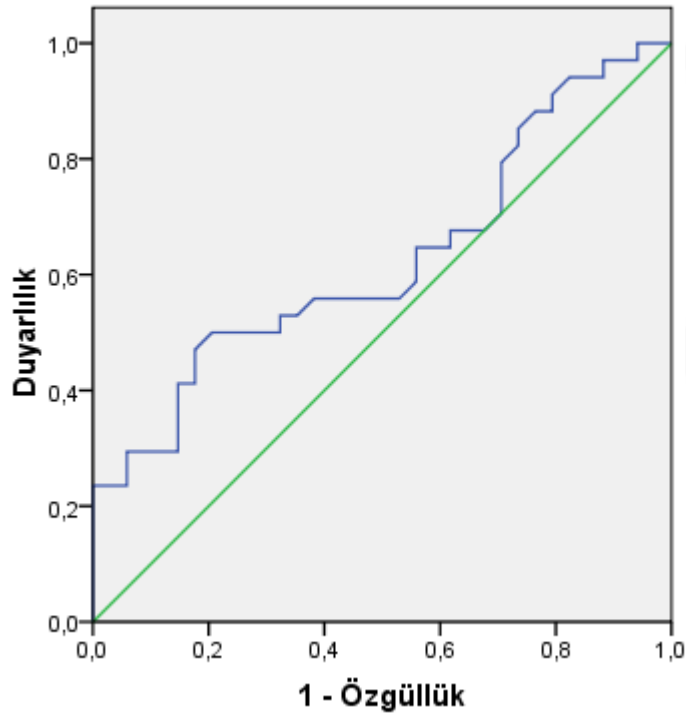
r=Spearman korelasyon katsayısı

POY:prematür ovaryan yetmezlik

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

POY ve kontrol grubunda FSH ile serum endokan seviyeleri arasında korelasyon analizi uygulandı. POY grubunda FSH ile serum endokan seviyeleri arasında pozitif yönlü bir korelasyon saptandı, bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,029**). (Tablo 11).

POY grubunda serum endokan düzeyi ile AMH değerleri arasında negatif yönlü bir korelasyon saptandı. Bu korelasyon istatistiksel olarak anlamlı bulundu (**p=0,033**). Kontrol grubunda ise negatif yönlü korelasyon bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ($p>0,05$). (Tablo 11)



Şekil 4. ROC Analiz Eğrisi

ROC analizine göre serum endokan seviyesi POY varlığını öngörmeye istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Eğri altındaki alan: 0,63; Standart hata: 0,07; %95 Güven Aralığı: 0,50-0,76; $p=0,045$). Endokan seviyesi için 124,34 pg/mL ölçümü POY’u öngörmeye (%47,1 duyarlılık, %76,5’lik özgüllük) en iyi eşik değeri olarak hesaplandı. (Tablo 12)

Tablo 12. Serum Endokan Seviyesinin POY Varlığını Öngörmedeki ROC Analizi
Sonuçları

	EAA	SH	%95 CI	p	Eşik değerler	Duyarlılık (%)	Özgüllük (%)
Serum endokan seviyesi	0,63	0,07	0,49-0,76	0,045	121,90 124,34 127,23	47,1 47,1 44,1	73,5 76,5 79,4

EAA: Eğri altındaki alan; SH: Standart hata; CI: Güven aralığı
p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Prematür ovaryan yetmezlik (POY) 40 yaş altı kadınlarda ovaryan foliküllerin sayısının erken azalması veya over fonksiyonunda bozulma gibi uzun ve devam eden süreçlere sahip bir spektrum hastalığıdır (4, 8). Popülasyonda doğal süreç ile ilerleyen ovaryan yaşlanmanın erken dönemde ortaya çıkmasıdır (26). POY 40 yaş altındaki kadınların %1-2'sini, 30 yaş altındakilerin ise % 0,1'ini etkilemektedir (7).

POY tanı kriterleri net olmadığı için tanı sıklıkla gecikmektedir. POY'un uzun dönem sağlık problemlerine yol açması ve infertilite riski nedeni ile erken tanı konması oldukça öneme sahiptir.

POY hastalarının %90'ında altta yatan neden bulunamamaktadır. Hastalığın etiyojisinde otoimmünite ve inflamatuvar süreçlerin rol oynadığı düşünülmektedir. POY hastalarında toksin maruziyeti, antikor aracılı mekanizmalar veya immün regülasyondaki intolerans sonucunda inflamatuvar süreçlerin devreye girmesi ile hücrel sinyal yollarının bozulduğu ve sonucunda organ yetmezlik tablosunun geliştiği düşünülmektedir. İnflamatuvar yanıtın tam olarak hangi mekanizma ile organ hasarı yarattığı günümüzde hala bilinmemektedir. POY etiyojisinde inflamatuvar sürecin başlattığı yıkım sonucunda ortaya çıkan ovaryan yetmezliğin erken dönemde tanınması ile hasarın geri dönebileceği ve anti-inflamatuvar ve immün supresif tedavi ile özellikle infertilite gelişen hastalarda oldukça umut verici sonuçlar yaratabileceği düşünülmektedir (146).

Endokan kan ve doku merkezli yeni bir biyokimyasal belirteçtir. Bilinen fonksiyonların çoğu endotel merkezli ortaya çıkmaktadır (217). Sağlıklı kişilerin dolaşımında da bulunmaktadır (196). Güncel araştırmalar endokanın inflamasyon, neovaskülarizasyon ve tümör oluşumunda anahtar role sahip olduğunu göstermiştir (21, 22). Endokan ayrıca vasküler hastalık görülme riskinin ve metabolik risk durumunun öngörülmesinde yararlı bir belirteç olabilir (218).

Güncel son literatüre baktığımızda yapılan çalışmalar göstermektedir ki serum endokan seviyeleri patogenezinde inflamatuvar süreçlerin rol oynadığı ve endotel disfonksiyonu olan hastalıklarda artmış saptanmaktadır. Çalışmaların sonucunda endokan seviyelerinin hastalıkların tanı konması sürecinde kullanılabileceği ve tedavi aşamasında potansiyel önemi olduğu düşünülmektedir.

Laloğlu ve ark. yaptığı çalışmada endometriyal ve ovaryan kanseri olan hastalarda serum endokan seviyelerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır. Artan endokan seviyelerinin malign süreçlerde tanımlayıcı olabileceği ve benign süreçlerden ayırımında kullanılabileceği düşünülmüştür (215).

Balta ve ark. yaptığı çalışmada endokan seviyeleri Behçet hastalarında anlamlı yüksek bulunmuş ve bu hastalarda artan düzeyler hastalık aktivitesi, CRP (c-reaktif protein) ve sedimentasyon seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (207). Açıksarı ve ark. tarafından sarkoidoz hasta grubunda belirgin olarak yüksek endokan seviyeleri bulunmuş ve yüksek endokan seviyeleri endotel disfonksiyonu ve erken evrede ortaya çıkan ateroskleroz ile ilişkilendirilmiştir (211).

Bununla birlikte, literatürdeki çalışmalardan zıt olarak Tok ve ark. Hepatit B, Hepatit C ve alkol ile ilişkili olmayan kronik yağlı karaciğer vakalarında kontrol grubuna göre daha düşük endokan düzeyleri saptamışlar ve kronik hepatitli vakalarda inflamatuvar süreç ile endokan seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğunu göstermişlerdir (219). Bu farklılığın nedeni çalışma örnek büyüklüğünün yetersiz olması ve hasta grubunun tanı kriterlerini tam olarak karşılamaması olarak düşünülmüştür.

Biz çalışmamızda serum endokan seviyelerinin POY hastalarında tespit edilerek hastalığın etiolojisinde rol oynadığı düşünülen inflamatuvar süreçler ile ilişkisinin aydınlatılmasını amaçladık. Literatür taraması yaptığımızda bu konuda yapılmış herhangi bir çalışma olmadığını gördük. Çalışmamız POY ile endokan seviyelerinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Literatürde POY ile inflamatuvar belirteç düzeylerini inceleyen çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda POY grubunda serum endokan seviyesi ortanca değeri kontrol grubuna göre daha yüksek saptandı. POY grubunda serum endokan seviyesi ortanca değeri 114,94 pg/mL iken kontrol grubunda ise serum endokan seviyesi ortanca değeri 97,22 pg/mL olarak bulundu. Gruplar arasındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,04$).

Literatürde çalışmamıza benzer olarak Delibaş ve ark. tarafından Tokat'ta 2017 yılında kesitsel vaka-kontrol çalışmasında 88 PCOS hastası ve 87 sağlıklı gönüllüde serum endokan seviyeleri araştırılmıştır (220). PCOS grubu yaş ortalaması $22,06 \pm 4,24$, kontrol grubu yaş ortalaması ise $23,71 \pm 4,42$ olarak belirlenmiştir. PCOS

etiyojisinde yavaş ilerleyen kronik inflamasyon olduğu bilinmektedir. Bu bilgi ışığında beklenildiği gibi PCOS grubunda serum endokan seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. PCOS grubunda ortalama $540,9 \pm 280,3$ pg/mL iken kontrol grubunda $355,5 \pm 233,5$ pg/mL olarak saptanmıştır ($p < 0,001$).

Biçer ve ark. İzmir’de 2015 yılında yaptığı bir diğer vaka kontrol çalışmasında 80 PCOS hastası ve 80 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir (221). PCOS grubu yaş ortalaması $26,88 \pm 4,52$ iken kontrol grubu yaş ortalaması $26,31 \pm 4,47$ olarak saptanmıştır. PCOS grubunda serum endokan seviyeleri beklenildiği üzere belirgin olarak daha yüksek bulunmuştur ($5,99 \pm 2,37$ ng/mL karşı $3,66 \pm 1,79$ ng/mL).

POY hastalarında inflamatuvar belirteç düzeyini araştıran bir diğer  alışma Yıldırım ve ark. tarafından Ankara’da 2013-2014 yılları arasında 43 POY hastası ve 41 sağlıklı gönüllü dahil edilerek yapılmıştır (25). POY ve kontrol grubunda SAA (serum amiloid protein), CRP ve NLR (nötrofil/lenfosit oranı) karşılaştırılması yapılmıştır. POY grubunda NLR oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. SAA seviyesi POY grubunda daha yüksek saptanmakla birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. POY ve kontrol grubunda CRP seviyeleri birbirine yakın olarak bulunmuştur. Literatürde  nceki çalışmalarda lenfosit yüksekliğinin kronik inflamasyon ve otoimmunit  ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışma sonucunda NLR oranının POY grubunda daha düşük olması POY etiyojisinde kronik inflamasyon ve otoimmunit nin rol oynadığına dair yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda aile öyküsünün POY gelişimi için bir risk faktörü olduğu saptandı. Literatür ile uyumlu olarak POY hastalarının %17,6 ‘sında aile öyküsü mevcut idi. Literatürde yapılan çalışmalarda menapoz yaşının anne ve kızları arasında genetik geçiş ile belirlendiği bildirilmiştir. Günümüze kadar yapılan çalışmaların derlemesi ile ailevi POY prevelansının %4 ile %31 arasında değiştiği d ş n lmektedir. Ferrarini ve ark. yaptığı bir çalışmada POY hastalarının %15’inin kız kardeş, anne veya büyükannesinin de POY tanısı aldığı bulunmuştur (222). Yıldırım ve ark.  alışmalarında POY grubunda %15 hastada aile öyküsü olduğunu saptamıştır (25).

Frajlil X premutasyonu POY etiolojisinde önemli bir yer almaktadır. Literatürde yapılan pek çok çalışma Frajlil X premutasyonunun spontan ve ailevi POY vakalarındaki görülme sıklığını değerlendirmiştir. Gersak ve ark. spontan POY hastalarında Frajlil X premutasyonu insidansının %2-5 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak POY hastalarında %5,8 Frajlil X premutasyon varlığı saptandı.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar POY gelişiminde aile öyküsünün ve Frajlil X premutasyon taşıyıcılığının risk faktörü olduğu bilgisini doğrular niteliktedir.

Sigara kullanımının over germ hücreleri üzerinde toksik etkisi olduğu ve folikül gelişimine negatif etki yarattığı bilinmektedir. Hayatbakhsh ve ark. yaptığı çalışma sonucunda reproduktif yaş aralığında sigara kullanımının menapoz yaşını erkene çekebileceği saptanmıştır (223). Çalışmamızda sigara kullanımının tek başına endokan seviyesini etkileyebileceği düşünülerek gruplar sigara kullanımı açısından benzer popülasyondan seçildi.

Literatürde sigara kullanımının endokan seviyesi ile ilişkisinin karşılaştırıldığı çalışma bulunamamıştır. Çalışmamızda POY ve kontrol grubunda sigara kullanan hastaların serum endokan seviyeleri kullanmayanlara göre daha yüksek bulunmuş olup bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p=0,316$, $p=0,712$).

Çalışmamızda serum endokan seviyeleri ile FSH ve AMH arasında istatistiksel anlamlı korelasyon saptandı. Serum endokan seviyeleri ve FSH arasında pozitif yönlü korelasyon, AMH arasında ise negatif yönlü korelasyon belirlendi ($r=0,325$, $r=-0,393$, $p=0,007$ ve $p=0,022$). Serum endokan seviyeleri ile VKİ arasında negatif yönlü bir korelasyon bulundu ancak istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

POY etiolojisinde kronik inflamasyon veya otoimmunitenin yer aldığı ve bu süreçlerin over doku hasarı meydana getirdiği düşünülmektedir. Over doku kaybı sonucunda FSH seviyelerinde yükselme ve over rezervinin azalması ile AMH seviyelerinin düşmesini beklemekteyiz. Çalışmamızda serum endokan seviyeleri ile FSH arasında pozitif yönlü, AMH ile negatif yönlü korelasyon saptanması bu beklentimizi doğrular niteliktedir.

Literatürde yapılan çalışmalarda endokan seviyeleri ile inflamatuvar belirteçler arasındaki korelasyonu gösteren sonuçlar birbiri ile çelişmektedir. Delibaş ve ark. PCOS hastaları ile yaptıkları çalışmada serum endokan seviyelerinin VKİ ve CRP

düzeyleri ile negatif yönlü korelasyon, HDL düzeyleri ile pozitif yönlü korelasyon gösterdiğini bulmuşlardır (220). Biçer ve ark. ise benzer şekilde PCOS tanısı alan hastaları dahil ederek yaptıkları çalışmada serum endokan seviyeleri ile VKİ, FAI (serbest androjen indeksi), hs-CRP (yüksek duyarlı CRP) ve HOMA-IR (insülin rezistans homeostaz modeli) ile pozitif yönlü korelasyon saptamışlardır (221). Benzer hasta grupları ile yapılan iki çalışma arasında VKİ ve CRP düzeyleri ile serum endokan seviyeleri arasında birbirine zıt yönlü korelasyon saptanmıştır.

Behçet hastaları ile yapılan bir diğer çalışma inflamatuvar belirteç olan CRP ve sedimentasyon ile endokan seviyelerinin korelasyon gösterdiğini saptanmıştır (207). Qiu ve ark. ise yaptıkları çalışmada akut miyokardiyal infarktüsü olan hastalarda CRP ile serum endokan seviyeleri arasında herhangi bir korelasyon saptamamıştır (206).

Açıksarı ve ark. sarkoidoz hastalarında yaptıkları çalışmada ise serum endokan seviyeleri ile VKİ ve CRP düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptamamıştır (211).

Çalışmamızın literatürdeki POY endokan ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Çalışmamızın ana kısıtlılığı ise hasta sayısının az olmasıdır.

6. SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda POY hastalarında serum endokan seviyelerini istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek saptadık. POY nedenleri bakımından oldukça değişkenlik gösteren bir patolojidir. Günümüzde hala olguların %90'ında altta yatan neden bulunamamaktadır. Çalışmamız sonucunda bulunan POY grubunda serum endokan seviyelerinin yüksekliği etiyolojide suçlanan kronik inflamasyon ve otoimmunité varlığını desteklemektedir. Endokan oldukça yeni bir biyokimyasal belirteç olup hastalığın patogeneğinde nasıl etki gösterdiği bilinmemektedir. Hastalığın uzun dönem komplikasyonları arasında yer alan ve ciddi mortalite riski yaratan kardiyovasküler hastalık oluşumunun anlaşılabilmesi ve tedavi imkanı yaratabilmesi açısından POY etiyolojisinde inflamatuvar süreçlerin detaylı olarak anlaşılabilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda ROC analizi yaparak bulduğumuz cut off serum endokan seviyesi ve duyarlılık özgüllük değerlerinin ileride yapılacak çalışmalara yol gösterici olabileceğini ummaktayız. POY etiyolojisinde inflamatuvar süreçlerin nasıl rol oynadığının ve artan endokan seviyelerinin mekanizmasının anlaşılabilmesi için geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

1. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol.* 1986;67(4):604-6.
2. Primary ovarian insufficiency in adolescents and young women. Committee Opinion No.605. American College of Obstetricians and Gynecologists. 2014;*Obstet Gynecol*(123):193-7.
3. Albright F SP, Fruser R. A syndrome characterized by primary ovarian insufficiency and decreased stature:report of 11 cases with a digression on hormonal control of axillary and pubic hair. *Am J Med Sci.* 1942;204:625-48.
4. Welt CK. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;68(4):499-509.
5. ESHRE Guideline:Management of women with premature ovarian insufficiency. *Human Reproduction.* 2016;31:926-37.
6. Marc A. Fritz LS. *Clinical Gynecologic Endocrinology Infertility* 8th Edition. 2011:455.
7. Coulam CB AS, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol.* 1986;67:604-6.
8. Lawrence M. Nelson MD. Primary Ovarian Insufficiency. *N Engl J Med.* 2009;360:606-14.
9. Riss M SJ, Hope S,Rozenberg S,Palacios S. Management of the menopause. 5th ed RSM Press. 2009.
10. Vujovic S, Brincat M, Erel T, Gambacciani M, Lambrinoudaki I, Moen MH, et al. EMAS position statement: Managing women with premature ovarian failure. *Maturitas.* 2010;67(1):91-3.
11. Medicine PCoTASfR. Current evaluation of amenorrhea. *Fertil Steril.* 2004;82:33-9.
12. Rebar RW CH. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril.* 1990 53:804-10.
13. Taylor AE AJ, Mulder JE, Martin KA, Sluss PM, Crowley WF,Jr. A randomized controlled trial of estradiol replacement therapy in women with hypergonadotropic amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:3615-21.
14. Bakalov VK, Anasti JN, Calis KA, Vanderhoof VH, Premkumar A, Chen S, et al. Autoimmune oophoritis as a mechanism of follicular dysfunction in women with 46,XX spontaneous premature ovarian failure. *Fertil Steril.* 2005;84(4):958-65.
15. Shuster LT RD, Gostout BS, Grossardt BR, Rocca WA. Premature menopause or early menopause:long-term health consequences. *Maturitas.* 2010;65:161-6.
16. Roca WA GB, de Andrade M, Malkasian GD, Melton 3rd LJ. Survival patterns after oophorectomy in premenopausal women:a population-based cohort study. *Lancet Oncol.* 2006;7:821-8.
17. Sturdee DW PA. International Menopause Society Writing Group,Updated IMS recommendations on postmenopausal hormone therapy and preventive strategies for midlife health. *Climacteric.* 2011;14:302-20.
18. Position statement estrogen and progestogen use in postmenopausal women;2010 position statement of The North American Menopause. *Menopause.* 2010;17:242-55.
19. Aparci M, Isilak Z, Uz O, Yalcin M, Kucuk U. Endocan and endothelial dysfunction. *Angiology.* 2015;66(5):488-9.
20. Lassalle P MS, Janin A,Heyden JV,Tavernier J,Fiers W,et al. ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J Biol Chem.* 1996;271:20458-64.

21. Delehedde M, Devenyns L, Maurage CA, Vives RR. Endocan in cancers: a lesson from a circulating dermatan sulfate proteoglycan. *Int J Cell Biol.* 2013;2013:705027.
22. Sarrazin S, Lyon M, Deakin JA, Guerrini M, Lassalle P, Delehedde M, et al. Characterization and binding activity of the chondroitin/dermatan sulfate chain from Endocan, a soluble endothelial proteoglycan. *Glycobiology.* 2010;20(11):1380-8.
23. Maurage CA, Adam E, Mineo JF, Sarrazin S, Debunne M, Siminski RM, et al. Endocan expression and localization in human glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2009;68(6):633-41.
24. Rennel E, Mellberg S, Dimberg A, Petersson L, Botling J, Ameer A, et al. Endocan is a VEGF-A and PI3K regulated gene with increased expression in human renal cancer. *Exp Cell Res.* 2007;313(7):1285-94.
25. Yıldırım G TA, Kokanalı M.K, Sarıkaya E., Züngün C., İnal H.A., Yılmaz F.M, Yılmaz N. Association between some inflammatory markers and primary ovarian insufficiency. *Menopause.* 2015;22:1000-5.
26. Nikolaou DT, A. (2004). early ovarian ageing. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology.*113:126-33.
27. van Noord PA DJ, Derland M, Boersma H, te Velde E. Age at natural menopause in a population-based screening cohort: the role of menarche, fecundity and lifestyle factors. *Fertil Steril.* 1997;68:95-102.
28. van Kasteren YM, Schoemaker J. Premature ovarian failure: a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. *Hum Reprod Update.* 1999;5(5):483-92.
29. Rebar RW EGFYSS. Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics. *Fertility and Sterility.* 1982;37:35-41.
30. Nelson LM, Anasti JN, Kimzey LM, Defensor RA, Lipetz KJ, White BJ, et al. Development of luteinized graafian follicles in patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79(5):1470-5.
31. Nelson LM. FMR 1 Premutation and Premature Ovarian Failure: Worldwide Community Guidline Development. 2006.
32. PH K. early menopause: primary ovarian insufficiency and surgical menopause. *Semin Reprod Med.* 2010;28:360-69.
33. Torgeson DJ TRRD. Mothers and daughters menopausal ages: is there a link? *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology.* 1997;74:63-6.
34. Panay N, Fenton A. Premature ovarian failure: a growing concern. *Climacteric.* 2008;11(1):1-3.
35. Sklar CA MA, Mitby P et al Premature Menopause in survivors of Childhood Cancer: a report from the Childhood Cncer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98:890-6.
36. Mazaud S GR, Guigon CJ, Coudouel N, Le Magueresse-Battistoni B, Magre S. Basal membrane remodeling during follicle histogenesis in the rat ovary: contribution of proteinases of the MMP and PA families. *Dev Biol.* 2005;277:403-16.
37. Faddy MJ, Gosden R. G., Gougeon A., Richardson S.J., Nelson J.F. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod.* 1992;7(10):1342-6.
38. MJ F. Follicle dynamics during ovarian ageing. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;163:43-8.
39. Amsterdam A DA, Selvoraj N, Aharoni D. Apoptosis in steroidogenic cells: structure-function analysis. *Steroids.* 1997;62:207-11.
40. Zinn AR PC, Fisher EM. Turner syndrome: the case of the missing swx chromosome. *Trends Genet.* 1993;9:90-3.

41. Farhi J HR, Ferber A., Orvieto R. & Ben R.Z. Non-response to ovarian stimulation in normogonadotrophic, normogonadal women: a clinical sign of impending onset of ovarian failure pre-empting the rise in basal follicle stimulating hormone levels. *Human Reproduction*. 1997;12:241-3.
42. Nikolaou D, Lavery, S., Turnere, C., Margara, R. & Trew, G. Is there a link between an extremely poor response to ovarian hyperstimulation and early ovarian failure? . *Human Reproduction*. 2002;17:1106-11.
43. de Boer EJ, den, T.I., te Velde, E.R., Burger, C.W. & van Leeuwen, F.E. Increased risk of early menopausal transition and natural menopause after poor response at first IVF treatment. *Human Reproduction*. 2003;18:1544-52.
44. Bachelot A, Rouxel A, Massin N, Dulon J, Courtillot C, Matuchansky C, et al. Phenotyping and genetic studies of 357 consecutive patients presenting with premature ovarian failure. *Eur J Endocrinol*. 2009;161(1):179-87.
45. Cramer DW XHaHB. Family history as a predictor of early menopause. *Fertil Steril*. 1995;64:740-5.
46. Cramer DW XHaHB. Does “incessant” ovulation increase risk for early menopause? *Am J Obstet Gynecol*. 1995b;172:568-73.
47. Murabito JM YQ, Fox C, Wilson PW & Cupples LA. Heritability of age at natural menopause in the Framingham Heart Study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2005;90:3427-30.
48. Vegetti W, Grazia Tibiletti M, Testa G, de Lauretis Y, Alagna F, Castoldi E, et al. Inheritance in idiopathic premature ovarian failure: analysis of 71 cases. *Hum Reprod*. 1998;13(7):1796-800.
49. Coulam CB, Stringfellow S, Hoefnagel D. Evidence for a genetic factor in the etiology of premature ovarian failure. *Fertil Steril*. 1983;40(5):693-5.
50. Mattison DR, Evans MI, Schwimmer WB, White BJ, Jensen B, Schulman JD. Familial premature ovarian failure. *Am J Hum Genet*. 1984;36(6):1341-8.
51. Vegetti W, Marozzi A, Manfredini E, Testa G, Alagna F, Nicolosi A, et al. Premature ovarian failure. *Mol Cell Endocrinol*. 2000;161(1-2):53-7.
52. Rajangam S NL. Cytogenetic studies in amenorrhea. *Saudi Med J*. 2007;28:187-92.
53. Schlesinger D, Herrera, L., Crisponi, L., Mumm, S., Percesepe, A., Pellegrini, M., Pilia, G. & Forabosco, A. Genes and translocations involved in POF. *American Journal of Medical Genetics*. 2002;111:328-33.
54. Nelson LM, Covington SN, Rebar RW. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. *Fertil Steril*. 2005;83(5):1327-32.
55. Hook EB WD. The distribution of chromosomal genotypes associated with Turner’s syndrome: livebirth prevalence rates and evidence for diminished fetal mortality and severity in genotypes associated with structural X abnormalities or mosaicism. *Hum Genet*. 1983;64:1:24.
56. Stratakis CA, Rennert OM. Turner syndrome: molecular and cytogenetics, dysmorphology, endocrine and other clinical manifestations and their management. *Endocrinologist*. 1994;4:442-53.
57. Jacobs P DP, James R, Mosse K, Power M, Robinson D, Skuse D. Turner syndrome: a cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet*. 1997;61:471-83.
58. Singh RP CD. The anatomy and histology of XO human embryos and fetuses. *Anatomical Record*. 1966;155:369-83.
59. Modi DN, Sane, S. & Bhartiya, D. Accelerated germ cell apoptosis in sex chromosome aneuploid fetal human gonads. *Mol Hum Reprod*. 2003;9:219-25.
60. Rebar RW. Premature ovarian failure. *Obstet Gynecol*. 2009;113(6):1355-63.

61. Pasquino AM PF, Pucarelli I, Segni M, Municchi G. Spontaneous pubertal development in Turner's syndrome. Italian Study Group for Turner's Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:1810-3.
62. Devi AS, Metzger DA, Luciano AA, Benn PA. 45,X/46,XX mosaicism in patients with idiopathic premature ovarian failure. *Fertil Steril.* 1998;70(1):89-93.
63. Healy DL BJ, Hodgen GD. Thymic regulation of primate fetal ovarian-adrenal differentiation. *Biol Reprod.* 1985;32:1127-33.
64. Khastgir G AH, Thomas A. et al Oocyte donation in Turner's syndrome : an analysis of the factors affecting the outcome. *Hum Reprod.* 1997:12279-285.
65. Sarto GE TE, Patau K. X inactivation in man: a woman with t(Xq-;12q+). *Am J Hum Genet.* 1973;25:262-70.
66. Krauss CM, Turksoy RN, Atkins L, McLaughlin C, Brown LG, Page DC. Familial premature ovarian failure due to an interstitial deletion of the long arm of the X chromosome. *N Engl J Med.* 1987;317(3):125-31.
67. Fassnacht W, Mempel A, Strowitzki T, Vogt PH. Premature ovarian failure (POF) syndrome: towards the molecular clinical analysis of its genetic complexity. *Curr Med Chem.* 2006;13(12):1397-410.
68. Powell CM, Taggart RT, Drumheller TC, Wangsa D, Qian C, Nelson LM, et al. Molecular and cytogenetic studies of an X;autosome translocation in a patient with premature ovarian failure and review of the literature. *Am J Med Genet.* 1994;52(1):19-26.
69. Bione S, Sala C, Manzini C, Arrigo G, Zuffardi O, Banfi S, et al. A human homologue of the *Drosophila melanogaster* diaphanous gene is disrupted in a patient with premature ovarian failure: evidence for conserved function in oogenesis and implications for human sterility. *Am J Hum Genet.* 1998;62(3):533-41.
70. Prueitt RL, Ross JL, Zinn AR. Physical mapping of nine Xq translocation breakpoints and identification of XPNPEP2 as a premature ovarian failure candidate gene. *Cytogenet Cell Genet.* 2000;89(1-2):44-50.
71. Banfi S BG, Bulfon A & Ballobio. A *Drosophila*-related expressed sequences. *Human Molecular Genetics.* 1997;6:1745-53.
72. Uzielli ML, Guarducci S, Lapi E, Cecconi A, Ricci U, Ricotti G, et al. Premature ovarian failure (POF) and fragile X premutation females: from POF to to fragile X carrier identification, from fragile X carrier diagnosis to POF association data. *Am J Med Genet.* 1999;84(3):300-3.
73. Patsalis PC HJ, Sismoni C. FMRL repeat analysis in patients with ovarian dysfunction or failure. *Am J Med Genet.* 1999;2;83(4):329-30.
74. Fu YH, Kuhl, D.P., Pizzuti, A., Pieretti, M., Sutcliffe, J.S., Richard, S., Verkerk, A.J., Holden, J.J, Fenwick, R.G., Jr. Warren, S.T., Oostra, B.A., Nelson, D.L.& Caskey, C.T. Variation of the CGG repeat at the fragile X site results in genetic instability: resolution of the Sherman paradox. *Cell* 1991;67:1047-58.
75. Bodega B, Bione S, Dalpra L, Toniolo D, Ornaghi F, Vegetti W, et al. Influence of intermediate and uninterrupted FMR1 CGG expansions in premature ovarian failure manifestation. *Hum Reprod.* 2006;21(4):952-7.
76. Bretherick KL, Fluker MR, Robinson WP. FMR1 repeat sizes in the gray zone and high end of the normal range are associated with premature ovarian failure. *Hum Genet.* 2005;117(4):376-82.
77. Kenneson A. ZF, Hagedorn CH, Warren ST. Reduced FMRP and increased FMR1 transcription is proportionally associated with CGG repeat number in intermediate-length and premutation carriers. *Hum Mol Genet.* 2001;10(14):1449.

78. Tassone F HR, Taylor AK, Mills JB, Harris SW, Gane LW, Hagerman PJ. Clinical involvement and protein expression in individuals with the FMR1 premutation. *Am J Med Genet.* 2000;91(1):144.
79. Feng Y. LL, Devys D., Warren ST. Quantitative comparison of FMR1 gene expression in normal and premutation alleles. *Am J Hum Genet.* 1995;56:106-13.
80. Murray A, Webb J, Dennis N, Conway G, Morton N. Microdeletions in FMR2 may be a significant cause of premature ovarian failure. *J Med Genet.* 1999;36(10):767-70.
81. Allingham-Hawkins DJ, Babul-Hirji R, Chitayat D, Holden JJ, Yang KT, Lee C, et al. Fragile X premutation is a significant risk factor for premature ovarian failure: the International Collaborative POF in Fragile X study--preliminary data. *Am J Med Genet.* 1999;83(4):322-5.
82. JP. F. The female and fragile X. A study of 144 obligate female carriers. *Am J Med Genet.* 1986;23(1-2):157.
83. Cronister A SR, Wittenberger M, Amiri K, Harris K, Hagerman RJ. Heterozygous fragile X female: historical, physical, cognitive and cytogenetic features. *Am J Med Genet.* 1991;38:269-74.
84. Rousseau F RP, Morel ML, Khandjian EW, Morgan K. Prevalence of carriers of premutation-size alleles of the FMR1 gene and implications for the population genetics of the fragile X syndrome. *Am J Hum Genet.* 1995;57(5):1006.
85. Warren ST SS. The fragile X syndrome. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *Metabolic and molecular bases of inherited disease.* 8 ed. 2000.
86. Gersak K, Meden-Vrtovec H, Peterlin B. Fragile X premutation in women with sporadic premature ovarian failure in Slovenia. *Hum Reprod.* 2003;18(8):1637-40.
87. Marozzi A, Vegetti W, Manfredini E, Tibiletti MG, Testa G, Crosignani PG, et al. Association between idiopathic premature ovarian failure and fragile X premutation. *Hum Reprod.* 2000;15(1):197-202.
88. Sherman SL. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. *Am J Med Genet.* 2000;97(3):189-94.
89. Murray A. Premature ovarian failure and the FMR1 gene. *Semin Reprod Med.* 2000;18(1):59-66.
90. Murray A, Ennis S, Morton N. No evidence for parent of origin influencing premature ovarian failure in fragile X premutation carriers. *Am J Hum Genet.* 2000;67(1):253-4; author reply 6-8.
91. Hundscheid RD, Sistermans EA, Thomas CM, Braat DD, Straatman H, Kiemeny LA, et al. Imprinting effect in premature ovarian failure confined to paternally inherited fragile X premutations. *Am J Hum Genet.* 2000;66(2):413-8.
92. Welt CK, Smith, P.C. & Taylor, A.E. Evidence of early ovarian aging in fragile X premutation carriers. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2004;89:4569-74.
93. Toniolo D. X-linked premature ovarian failure: a complex disease. *Curr Opin Genet Dev.* 2006;16(3):293-300.
94. Cordts EB, Christofolini DM, Dos Santos AA, Bianco B, Barbosa CP. Genetic aspects of premature ovarian failure: a literature review. *Arch Gynecol Obstet.* 2011;283(3):635-43.
95. Abitbol M MC, Delezoide AL, Rhyner T, Vekemans M, Mallet J. Nucleus basalis magnocellularis and hippocampus are the major sites of FMR-1 expression in the human fetal brain. *Nat Genet.* 1993;4:147-53.
96. Hinds HL AC, Sutcliffe JS, Nelson DL, Warren ST, Housman DE, Schalling M. Tissue specific expression of FMR-1 provides evidence for a functional role in fragile X syndrome *Nat Genet.* 1993;3:36-43.

97. Tamanini F WR, van Unen L, Bontekoe C, Galjaard H, Oostra BA, Hoogeveen AT. Differential expression of FMR1, FXR1 and FXR2 proteins in human brain and testis. *Hum Mol Genet.* 1997;6:1315-22.
98. Tassone F HR, Taylor AK, Gane LW, Godfrey TE & Hagerman PJ. Elevated levels of FMR1 mRNA in carrier males: a new mechanism of involvement in the fragile X syndrome. *American Journal of Human Genetics.* 2000 66:6-15.
99. Conway GS, Hettiarachchi S, Murray A, Jacobs PA. Fragile X premutations in familial premature ovarian failure. *Lancet.* 1995;346(8970):309-10.
100. Murray A, Webb J, Grimley S, Conway G, Jacobs P. Studies of FRAXA and FRAXE in women with premature ovarian failure. *J Med Genet.* 1998;35(8):637-40.
101. Conway GS, Payne NN, Webb J, Murray A, Jacobs PA. Fragile X premutation screening in women with premature ovarian failure. *Hum Reprod.* 1998;13(5):1184-7.
102. Crisponi L DM, Loi A, Chiappe F, Uda M, Amanti P, Bisceglia L, Zelante L, Nagaraja R, Porcu S et al. The putative forkhead transcription factor FOXL2 is mutated in blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome. *Nat Genet.* 2001;27:159-66.
103. Wittenberger MD HR, Sherman SL, Conkie-Rosell A, Welt CK, Rebar RW, Corrigan EC, Simpson JL & Nelson LM. The FMR1 premutation and reproduction. *Fertility and Sterility.* 2006;87:456-65.
104. Gynecology. ACoOa. ACOG committee opinion, 338: Screening for fragile X syndrome. *Obstet Gynecol.* 2006;107:1483-5.
105. Sherman S. PBADDA. Fragile X syndrome: diagnostic and carrier testing. *Genetics in Medicine.* 2005;7:584-7.
106. Jacobs P BA, Brown W, Macgregor T, Maclean N, Harnden D. Evidence for the existence of the human "superfemale". *Lancet.* 1959:423-5.
107. J N. Sex Chromosome Abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1990;26(4):209-23.
108. Goswami R, Goswami D, Kabra M, Gupta N, Dubey S, Dadhwal V. Prevalence of the triple X syndrome in phenotypically normal women with premature ovarian failure and its association with autoimmune thyroid disorders. *Fertil Steril.* 2003;80(4):1052-4.
109. Tartaglia NR HS, Sutherland A, Wilson R, Wilson I. A review of trisomy X (47, XXX). *Orphanet J Rare Dis.* 2010;11:5:8.
110. Caburet S, Arboleda VA, Llano E, Overbeek PA, Barbero JL, Oka K, et al. Mutant cohesin in premature ovarian failure. *N Engl J Med.* 2014;370(10):943-9.
111. AlAsiri S BS, Wood-Trageser MA, Yatsenko SA, Jeffries EP, Surti U, Ketterer DM, Afzal S, Ramzan K, Faiyaz-UI Haque M, Jiang H, Trakselis MA, Rajkovic A. Exome sequencing reveals MCM8 mutation underlines ovarian failure and chromosomal instability. *J Clin Invest Epub.* 2015 2014;Jan;125(1): Dec 1:258-62.
112. de Vries L BD, Smirin-Yosef P, Lagovsky I, Tzur S, Basel-Vanagaite L. Exome sequencing reveals SYCE1 mutation associated with autosomal recessive primary ovarian insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):E2129.:Epub 2014 Jul 25.
113. Wood-Trageser MA, Gurbuz F, Yatsenko SA, Jeffries EP, Kotan LD, Surti U, Ketterer DM, Matic J, Chipkin J, Jiang H, Trakselis MA, Topaloglu AK, Rajkovic A. MCM9 mutations are associated with ovarian failure, short stature and chromosomal instability. *Am J Hum Genet.* 2014;95:6:754.
114. Smirin-Yosef P Z-LN, Tzur S, Granot Y, Cohen L, Sachsenweger J, Borck G, Lagovsky I, Salmon-Divon M, Wiesmüller L, Basel-Vanagaite L. A Biallelic mutation in the homologous recombination repair gene SPIDR is associated with human gonadal dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(2):681.

115. Ledig S, Ropke A, Haeusler G, Hinney B, Wieacker P. BMP15 mutations in XX gonadal dysgenesis and premature ovarian failure. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(1):84 e1-5.
116. Persani L, Rossetti R, Cacciatore C. Genes involved in human premature ovarian failure. *J Mol Endocrinol.* 2010;45(5):257-79.
117. SR. M. Congenital adrenal hyperplasia secondary to 17-hydroxylase deficiency. Two sisters with amenorrhea, hypokalemia, hypertension and cystic ovaries. *Annals of Internal Medicine.* 1969;70:69-75.
118. Ito Y FC, Conte FA, Grumbach MM & Simpson ER. Molecular basis of aromatase deficiency in an adult female with sexual infantilism and polycystic ovaries. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 1993;90:11673-7.
119. Janse F dWL, Duran KJ, Kloosterman WP, Goverde AJ, Lambalk CB, Laven JS, Fauser BC, Glitay JC, Dutch Primary Ovarian Insufficiency Consortium. Limited contribution of NR5A1 (SF-1) mutations in women with primary ovarian insufficiency (POI). *Fertil Steril.* 2012;97(1):141-6.e2.
120. Chen YT MD, Feigenbaum I, Fukui H, Schulman JD. Reduction in oocyte number of following prenatal exposure to a diet high in galactose. *Science.* 1981;214:1145-7.
121. Kaufman FR, Donnell GN, Lobo RA. Ovarian androgen secretion in patients with galactosemia and premature ovarian failure. *Fertil Steril.* 1987;47(6):1033-4.
122. Levy HL DS, Porensky RS, Wender DF. Ovarian failure in Galactosemia. *N Engl J Med.* 1984;310:50.
123. JB G. Gonadal function in galactosemics and in galactose-intoxicated animals. *European Journal of Pediatrics.* 1995;154:14-20.
124. Waggoner DD BN, Donnell GN. Long-term prognosis in galactosemia: result of a survey of 350 cases. *J Inherit Metab Dis.* 1990;13:802-18.
125. Kaufman FR KM, Donnell GN, Goebelsmann U, March C & Koch R. Hypergonadotropic hypogonadism in female patients with galactosemia. *New England Journal of Medicine.* 1981;17:994-8.
126. Shelling AN. Premature ovarian failure. *Reproduction.* 2010;140(5):633-41.
127. Hoek A, Schoemaker J, Drexhage HA. Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocr Rev.* 1997;18(1):107-34.
128. Doldi N, Belvisi L, Bassan M, Fusi FM, Ferrari A. Premature ovarian failure: steroid synthesis and autoimmunity. *Gynecol Endocrinol.* 1998;12(1):23-8.
129. LaBarbera AR, Miller MM, Ober C, Rebar RW. Autoimmune etiology in premature ovarian failure. *Am J Reprod Immunol Microbiol.* 1988;16(3):115-22.
130. Kim TJ, Anasti JN, Flack MR, Kimzey LM, Defensor RA, Nelson LM. Routine endocrine screening for patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *Obstet Gynecol.* 1997;89(5 Pt 1):777-9.
131. Bakalov VK, Vanderhoof VH, Bondy CA, Nelson LM. Adrenal antibodies detect asymptomatic auto-immune adrenal insufficiency in young women with spontaneous premature ovarian failure. *Hum Reprod.* 2002;17(8):2096-100.
132. Nagamine K PPSH. Positional cloning of the APECED gene. *Nature Genetics.* 1997;17:399-403.
133. Consortium TF-GA. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nature Genetics.* 1997;17:399-403.
134. Betterle C, Rossi A, Dalla Pria S, Artifoni A, Pedini B, Gavasso S, et al. Premature ovarian failure: autoimmunity and natural history. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993;39(1):35-43.

135. Betterle C VM, Pedini B, Chen S, Smith BR, Furmaniak J. Adrenal cortex autoantibodies and steroid-producing cells autoantibodies in patients with Addison's disease: comparison of immunofluorescence and immunoprecipitation assays. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 Feb 84(2):618-22.
136. Ahonen P MA, Perheentupa J. Adrenal and steroidal cell antibodies in patients with autoimmune polyglandular disease type I and risk of adrenocortical and ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;64:494.
137. McNatty KP SR, Barnes EW, Irvine EW. The cytotoxic effect of serum from patients with Addison's disease and autoimmune ovarian failure on human granulosa cell in culture. *Clin Exp Immunol.* 1975;22:378-84.
138. Chen S, Sawicka J, Betterle C, Powell M, Prentice L, Volpato M, et al. Autoantibodies to steroidogenic enzymes in autoimmune polyglandular syndrome, Addison's disease, and premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(5):1871-6.
139. Y. TOaN. Self tolerance and localized autoimmunity. Mouse models of autoimmune disease that suggest tissue-specific suppressor T cells are involved in self tolerance. *J Exp Med.* 1987;165:146-56.
140. Miyake T, Sato Y, Takeuchi S. Implications of circulating autoantibodies and peripheral blood lymphocyte subsets for the genesis of premature ovarian failure. *J Reprod Immunol.* 1987;12(3):163-71.
141. Tung KS GK, Lou Y, Bagavant H. Autoimmune ovarian disease: mechanism of induction and prevention. *J Soc Gynecol Investig.* 2001;8:49-51.
142. Welt CK FA, Taylor AE, Martin KA & Hall JE. Selective theca cell dysfunction in autoimmune oophoritis results in multifollicular development, decreased estradiol and elevated inhibin B levels. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2005;90:3069-76.
143. J GEH. Autoimmune oophoritis. *American Journal of Clinical Pathology.* 1984;81:105-9.
144. Bannatyne P RPSR. Autoimmune oophoritis: a clinicopathologic assessment of 12 cases. *International Journal of Gynecological Pathology.* 1990;9:191-207.
145. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Horm Res.* 2007;68(4):196-202.
146. Edassery SL, Shatavi SV, Kunkel JP, Hauer C, Brucker C, Penumatsa K, et al. Autoantigens in ovarian autoimmunity associated with unexplained infertility and premature ovarian failure. *Fertil Steril.* 2010;94(7):2636-41.
147. Sharara FI SDaFJ. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertil Steril.* 1998;70:613-22.
148. Hascalik S CO, Sarac K, Hascalik M:. Transient ovarian failure: a rare complication of uterine fibroid embolization. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83:682-5.
149. Clark ST RJ, Crowther D, Swindell R & Shalet SM. Gonadal function following chemotherapy for Hodgkin's disease: a comparative study of MVPP and a seven-drug hybrid regimen. *Journal of Clinical Oncology.* 1995;13:134-9.
150. D. M. Reproduction post-chemotherapy in young cancer patients. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2000;169:123-31.
151. Chemaitilly W MA, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Yasui Y, Robison LL & Sklar CA. Acute ovarian failure in the childhood cancer survivor study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2006;91:1723-8.
152. Sonmezer M OK. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod.* 2004;10:251-66.
153. Thibaud E R-MK, Trivin C, Esperou H, Michon J, Brauner R. Ovarian function after bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant.* 1998;21:287-90.
154. Jick H PJMa. Relation between smoking and age of natural menopause. *Lancet.* 1977;i:1354-5.

155. Barbieri RL MPRK. Constituents of cigarette smoke inhibit human granulosa cell aromatase. *Fertil Steril*. 1986;46:232-6.
156. Anasti JN. Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril*. 1998;70(1):1-15.
157. Morrison JC GJ, Wiser WL, et al. Mumps oophoritis: A cause of premature menopause. *Fertil Steril*. 1975;26:655-9.
158. Jequier AM DS. The premature menopause: An example of a difficult diagnostic problem. In *Programs and Abstracts of the 1st Australasian Menopause Society Congress, Perth, Australia*. 1997.
159. Williams DJ CP, Ironside JW. Pre-menopausal cytomegalovirus oophoritis. *Histopathology*. 1990;16(4):405.
160. De Vos M DP, Fauser BC. Primary ovarian insufficiency. *Lancet*. 2010 Sep;11;376(9744):911-21.
161. Panay N, Kalu E. Management of premature ovarian failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2009;23(1):129-40.
162. Nippita TA, Baber RJ. Premature ovarian failure: a review. *Climacteric*. 2007;10(1):11-22.
163. SM. N. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril*. 2013;99:963-9.
164. Broekmans FJ KJ, Hendriks DJ, et al. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update*. 2006;12:685.
165. La Marca A SS. Individualization of controlled ovarian stimulation in IVF using ovarian reserve markers: from theory to practice. 2014;20:124.
166. Rocha VB G-JG, Marques-de-Faria AP, de Mello MP, Maciel-Guerra AT. Complete gonadal dysgenesis in clinical practice: the 46,XY karyotype accounts for more than one third of cases. *Fertil Steril*. 2011;96::1431-4.
167. Grinspoon SKB, B.M. Clinical review 62: laboratory assement of adrenal insufficiency. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1994;79:923-31.
168. Goswami R, Marwaha RK, Goswami D, Gupta N, Ray D, Tomar N, et al. Prevalence of thyroid autoimmunity in sporadic idiopathic hypoparathyroidism in comparison to type 1 diabetes and premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(11):4256-9.
169. Novosad JA, Kalantaridou SN, Tong ZB, Nelson LM. Ovarian antibodies as detected by indirect immunofluorescence are unreliable in the diagnosis of autoimmune premature ovarian failure: a controlled evaluation. *BMC Womens Health*. 2003;3(1):2.
170. Rebar RW, Erickson GF, Yen SS. Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics. *Fertil Steril*. 1982;37(1):35-41.
171. Hubayter ZR, Popat V, Vanderhoof VH, Ndubizu O, Johnson D, Mao E, et al. A prospective evaluation of antral follicle function in women with 46,XX spontaneous primary ovarian insufficiency. *Fertil Steril*. 2010;94(5):1769-74.
172. Lonsdale RN RP, Trowell JE. Autoimmune oophoritis associated with polycystic ovaries. *Histopathology*. 1991;19(1):77.
173. Groff AA, Covington SN, Halverson LR, Fitzgerald OR, Vanderhoof V, Calis K, et al. Assessing the emotional needs of women with spontaneous premature ovarian failure. *Fertil Steril*. 2005;83(6):1734-41.
174. van Kasteren YM, Hundscheid RD, Smits AP, Cremers FP, van Zonneveld P, Braat DD. Familial idiopathic premature ovarian failure: an overrated and underestimated genetic disease? *Hum Reprod*. 1999;14(10):2455-9.
175. Maclaran K, Horner E, Panay N. Premature ovarian failure: long-term sequelae. *Menopause Int*. 2010;16(1):38-41.

176. Ossewaarde ME BM, Verbeek AL, Peeteres PH, van der Graaf Y. Age at menopause, cause-specific mortality and total life expectancy. *Epidemiology*. 2005;16:556-62.
177. C. R. Clinical Practice. Postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*. 2005;353:595-603.
178. Amarante F VL, Mturana MA, Spritzer PM. Women with primary ovarian insufficiency have lower bone mineral density. *Braz J Med Biol Res*. 2011 Jan;44(1):78-83.
179. Kanis JA ME, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, Reginster JY. Scientific Advisory Board of the European Society for C, Economic Aspects of O, Osteoporosis F. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2013;24:23-57.
180. Society. NAM. The role calcium in pre- and postmenopausal women: 2006 position statement of the North American Menopause Society. *Menopause*. 2006;13:862-77.
181. Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, Kazakos N, Kravariti M, Calis KA, et al. Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(8):3907-13.
182. Knauff EA, Westerveld HE, Goverde AJ, Eijkemans MJ, Valkenburg O, van Santbrink EJ, et al. Lipid profile of women with premature ovarian failure. *Menopause*. 2008;15(5):919-23.
183. Jacobsen BK KS, Fraser GE. Age at natural menopause and total mortality and morbidity from ischemic heart disease: the Adventist Health Study. *J Clin Epidemiol*. 1999;52:303-7.
184. A.I. G. Infertility and psychological distress: a critical review of the literature. *Soc Sci Med*. 1997;45:1679-704.
185. Schmidt PJ, Cardoso GM, Ross JL, Haq N, Rubinow DR, Bondy CA. Shyness, social anxiety, and impaired self-esteem in Turner syndrome and premature ovarian failure. *JAMA*. 2006;295(12):1374-6.
186. Orshan SA VJ, Covington SN, Vanderhoof VH, Troendle JF, Nelson LM. Women with spontaneous 46,XX primary ovarian insufficiency (hypergonadotrophic hypogonadism) have lower perceived social support than control women. *Fertil Steril*. 2008.
187. LM. N. Spontaneous premature ovarian failure: young women, special needs. *Menopause Management*. 2001;10:1.
188. van der Stege JG, Groen H, van Zadelhoff SJ, Lambalk CB, Braat DD, van Kasteren YM, et al. Decreased androgen concentrations and diminished general and sexual well-being in women with premature ovarian failure. *Menopause*. 2008;15(1):23-31.
189. Graziottin A BR. Sexual dysfunction in women with premature menopause. *Menopause*. 2004;11:766-77.
190. Hartmann BW, Kirchengast S, Albrecht A, Laml T, Soregi G, Huber JC. Androgen serum levels in women with premature ovarian failure compared to fertile and menopausal controls. *Gynecol Obstet Invest*. 1997;44(2):127-31.
191. Falsetti L, Scalchi S, Villani MT, Bugari G. Premature ovarian failure. *Gynecol Endocrinol*. 1999;13(3):189-95.
192. Scherpereel A, Depontieu F, Grigoriu B, Cavestri B, Tsicopoulos A, Gentina T, et al. Endocan, a new endothelial marker in human sepsis. *Crit Care Med*. 2006;34(2):532-7.
193. Aitkenhead M WS, Nakatsu MN, Mestas J, Heard C, Hughes CC. Identification of endothelial cell genes expressed in an in vitro model of angiogenesis: Induction of ESM-1, (beta) ig-h3, and NrCAM. *Microvasc Res*. 2002;63:159-71.
194. TA S. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: The multistep paradigm. *Cell*. 1994;56:907-18.
195. Kali A, Shetty KS. Endocan: a novel circulating proteoglycan. *Indian J Pharmacol*. 2014;46(6):579-83.

196. Sarrazin S, Adam E, Lyon M, Depontieu F, Motte V, Landolfi C, et al. Endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1): a potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta*. 2006;1765(1):25-37.
197. Tadzic R, Mihalj M, Vcev A, Ennen J, Tadzic A, Drenjancevic I. The effects of arterial blood pressure reduction on endocan and soluble endothelial cell adhesion molecules (CAMs) and CAMs ligands expression in hypertensive patients on Ca-channel blocker therapy. *Kidney Blood Press Res*. 2013;37(2-3):103-15.
198. Bechard D, Gentina T, Delehedde M, Scherpereel A, Lyon M, Aumercier M, et al. Endocan is a novel chondroitin sulfate/dermatan sulfate proteoglycan that promotes hepatocyte growth factor/scatter factor mitogenic activity. *J Biol Chem*. 2001;276(51):48341-9.
199. Abid MR, Yi X, Yano K, Shih SC, Aird WC. Vascular endocan is preferentially expressed in tumor endothelium. *Microvasc Res*. 2006;72(3):136-45.
200. Roudnicky F, Poyet C, Wild P, Krampitz S, Negrini F, Huggenberger R, et al. Endocan is upregulated on tumor vessels in invasive bladder cancer where it mediates VEGF-A-induced angiogenesis. *Cancer Res*. 2013;73(3):1097-106.
201. Strasser GA KJ, Tessier-Lavigne M. Microarray analysis of retinal endothelial tip cells identifies CXCR4 as a mediator of tip cell morphology and braching. *Blood*. 2010;115:5102-10.
202. Bissell MJ. Tumor plasticity allows vasculogenic mimicry, a novel form of angiogenic switch. Arose by any other name? *Am J Pathol*. 1999;155:675-9.
203. Bilir B, Ekiz Bilir B, Yilmaz I, Soysal Atilen N, Yildirim T, Kara SP, et al. Association of apelin, endoglin and endocan with diabetic peripheral neuropathy in type 2 diabetic patients. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(5):892-8.
204. Kanbay A, Ceylan E, Koseoglu HI, Caliskan M, Takir M, Tulu S, et al. Endocan: a novel predictor of endothelial dysfunction in obstructive sleep apnea syndrome. *Clin Respir J*. 2018;12(1):84-90.
205. Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, Ozturk C, Kurtoglu E, Demir M, et al. Endocan--a novel inflammatory indicator in newly diagnosed patients with hypertension: a pilot study. *Angiology*. 2014;65(9):773-7.
206. Qiu CR, Fu Q, Sui J, Zhang Q, Wei P, Wu Y, et al. Serum Endothelial Cell-Specific Molecule 1 (Endocan) Levels in Patients With Acute Myocardial Infarction and Its Clinical Significance. *Angiology*. 2017;68(4):354-9.
207. Balta I, Balta S, Koryurek OM, Demirkol S, Mikhailidis DP, Celik T, et al. Serum endocan levels as a marker of disease activity in patients with Behcet disease. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70(2):291-6.
208. Adekola H, Romero R, Chaemsaitong P, Korzeniewski SJ, Dong Z, Yeo L, et al. Endocan, a putative endothelial cell marker, is elevated in preeclampsia, decreased in acute pyelonephritis, and unchanged in other obstetrical syndromes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015;28(14):1621-32.
209. Saldır M, Tunc T, Cekmez F, Cetinkaya M, Kalayci T, Fidancı K, et al. Endocan and Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 as Novel Markers for Neonatal Sepsis. *Pediatr Neonatol*. 2015;56(6):415-21.
210. Icli A, Cure E, Cure MC, Uslu AU, Balta S, Mikhailidis DP, et al. Endocan Levels and Subclinical Atherosclerosis in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Angiology*. 2016;67(8):749-55.
211. Aciksari G, Kavas M, Atici A, Kul S, Erman H, Yilmaz Y, et al. Endocan Levels and Endothelial Dysfunction in Patients With Sarcoidosis. *Angiology*. 2018;69(10):878-83.
212. Guzel A, Duran L, Koksall N, Torun AC, Alacam H, Ekiz BC, et al. Evaluation of serum endothelial cell specific molecule-1 (endocan) levels as a biomarker in patients with pulmonary thromboembolism. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2014;25(3):272-6.

213. Almong N ML, Raychowdhury R, Schwager C, Erber R, Short S, et al. Transcriptional switch of dormant tumors to fast-growing angiogenic phenotype. *Cancer Res.* 2009;69:836-44.
214. Scherpereel A, Gentina T, Grigoriu B, Senechal S, Janin A, Tsicopoulos A, et al. Overexpression of endocan induces tumor formation. *Cancer Res.* 2003;63(18):6084-9.
215. Laloglu E, Kumtepe Y, Aksoy H, Topdagi Yilmaz EP. Serum endocan levels in endometrial and ovarian cancers. *J Clin Lab Anal.* 2017;31(5).
216. Lee W, Ku SK, Kim SW, Bae JS. Endocan elicits severe vascular inflammatory responses in vitro and in vivo. *J Cell Physiol.* 2014;229(5):620-30.
217. Zhang SM, Zuo L, Zhou Q, Gui SY, Shi R, Wu Q, et al. Expression and distribution of endocan in human tissues. *Biotech Histochem.* 2012;87(3):172-8.
218. Altintas N, Mutlu LC, Akkoyun DC, Aydin M, Bilir B, Yilmaz A, et al. Effect of CPAP on New Endothelial Dysfunction Marker, Endocan, in People With Obstructive Sleep Apnea. *Angiology.* 2016;67(4):364-74.
219. Tok D, Ekiz F, Basar O, Coban S, Ozturk G. Serum endocan levels in patients with chronic liver disease. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(7):1802-7.
220. Delibas IB, Yapca OE, Laloglu E. Does endocan level increase in women with polycystic ovary syndrome? A case - control study. *Ginekol Pol.* 2018;89(9):500-5.
221. Bicer M, Guler A, Unal Kocabas G, Imamoglu C, Baloglu A, Bilgir O, et al. Endocan is a predictor of increased cardiovascular risk in women with polycystic ovary syndrome. *Endocr Res.* 2017;42(2):145-53.
222. Ferrarini E. RL, Fruzzetti F., et al. clinical characteristics and genetic analysis in women with premature ovarian insufficiency. *Maturitas.* 2013;74:61-7.
223. Hayatbakhsh MR CA, Williams GM, Sina M, Najman JM. Cigarette smoking and age of menopause: a large prospective study. *Maturitas.* 2012 72:346-52.

8. EKLER

EK 1. ETİK KURUL ONAYI

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİĞİ OLAN KADINLARDA KADINLARDA VASKÜLER İNFLAMASYON BELİRTECİ OLAN SERUM ENDOCAN DÜZEYLERİNİN TESPİT EDİLMESİ
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	T.C SAĞLIK BAKANLIĞI ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU (2011-KAEK-19)
	AÇIK ADRESİ:	T.C. Sağlık Bakanlığı Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Talatpaşa Bulvarı Samanpazarı/ANKARA
	TELEFON	0 312 306 56 85
	FAKS	0 312 312 50 69
	E-POSTA	etik_kurul@yahoo.com.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	DOÇ. DR. NAFİYE YILMAZ DR. MELİKE GÜLER
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kadın Hastalıkları ve Doğum
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	
	DESTEKLEYİCİ	
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)	
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	ZEKAİ TAHİR BURAK KADIN SAĞLIĞI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐
		FAZ 2 ☐
		FAZ 3 ☐
		FAZ 4 ☐
		Gözlemsel ilaç çalışması ☐
		Tıbbi cihaz klinik araştırması ☐
		İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları ☐
		İlaç dışı klinik araştırma ☐
	Diğer ise belirtiniz: Prospektif vaka-kontrol Çalışması	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒ ÇOK MERKEZ ☐ ULUSAL ☐ ULUSLAR ARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: Doç. Dr. Sema ZERGEROĞLU

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİĞİ OLAN KADINLARDA KADINLARDA VASKÜLER İNFLAMASYON BELİRTECİ OLAN SERUM ENDOCAN DÜZEYLERİNİN TESPİT EDİLMESİ	
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU			
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SİGORTA	☐	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒	
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐	
	İLAN	☐	
	YILLIK BİLDİRİM	☐	
	SONUÇ RAPORU	☐	
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 137 /2017	Tarih: 7.11.2017	
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.		

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu Son Versiyonu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Sema ZERGEROĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki	Katılım	İmza
Av. Murat CANGÜL	Hukuk	Serbest Avukat	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Eyüp HORASANLI	Anesteziyoloji	Keçiören EAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Fırat HARDALAÇ	Biomedikal	Gazi Üni. Müh. Fak. Elek. Elektronik	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Yük. Müh. Fatih DULKAN	Metallurji Müh.	Sanayi Bakanlığı	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Beyza Doğanay Erdoğan	Biyoistatistik	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Uzm. Dr. Ece GÜL İBRİŞİM	Biyokimya	Zekai Tahir Burak EAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ömer ERDEVE	Neonatoloji	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. H. Zafer GÜNEY	Farmakoloji	Gazi Üni. Tıp Fak	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Tarkan KARAKAN	Gastroenteroloji	Gazi Üni. Tıp Fak	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Elif Gül YAPAR EYİ	Kadın Doğum Hast.	Zekai Tahir Burak EAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. AYKAN YÜCEL	Kadın Doğum Hast.	Zekai Tahir Burak EAH	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Sema ZERGEROĞLU	Patoloji	Zekai Tahir Burak EAH	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının

Unvanı/Adı/Soyadı: **Doç. Dr. Sema ZERGEROĞLU**

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

EK 2. BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: Prematür ovaryan yetmezliği olan hastalarda inflamasyon belirteci olan serum endokan düzeylerinin tespit edilmesi

Sorumlu Araştırmacının Adı: Dr. Melike Güler

Sorumlu Eğitim Görevlisi: Prof.Dr. Nafiye YILMAZ

“Prematür ovaryan yetmezliği olan hastalarda inflamasyon belirteci olan serum endokan düzeylerinin tespit edilmesi” isimli bir çalışmada yer almak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmaya davet edilmenizin nedeni size POY tanısı konmuş olmasıdır. Bu çalışma, araştırma amaçlı olarak yapılmaktadır ve katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Çalışmaya katılma konusunda karar vermeden önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir. Bu araştırma, Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi’nde Dr.Melike GÜLER’in sorumluluğu altındadır.

Çalışmanın amacı nedir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

- *Araştırmanın amacı:* Prematür ovaryan yetmezliği olan hastalarda inflamasyon belirteci olan serum endokan düzeylerinin tespit edilmesi ve hastalığın etiolojisinde rol oynadığı düşünülen inflamatuvar süreçle ilişkisinin gösterilmesidir.
- *Araştırmaya Ankara Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Aile Planlaması ve Reprodüktif Endokrinoloji Kliniği’ne başvuran hastalar dahil edilecektir.*
-

Bu çalışmaya katılmalı mıyım? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, doktorunuz tarafından sizin için en uygun tedavi planı uygulanacaktır. Aynı şekilde çalışmayı yürüten doktor çalışmaya devam etmenizin sizin için yararlı olmayacağına karar verebilir ve sizi çalışma dışı bırakabilir, bu durumda da sizin için en uygun tedavi seçilecektir.

Bu çalışmaya katılırsam beni ne bekliyor?

Sizden rutin poliklinik istemi olan kanlar alınırken ekstra bir tüp kan çalışma için istenecektir.

Çalışmanın riskleri ve rahatsızlıkları var mıdır?

1. Çalışma sizi herhangi bir risk altına sokmamaktadır.
2. Araştırmadan dolayı göreceğiniz olası bir zararda gerekli her türlü tıbbi girişim tarafımızdan yapılacaktır; bu konudaki tüm harcamalar da tarafımızdan karşılanacaktır

Çalışmada yer almamanın yararları nelerdir?

Araştırmadan beklenen toplum yararı; nedeni bilinmeyen prematür ovaryan yetmezlik hastalığının etiolojisinde inflamatuvar süreçlerin etkisi olup olmadığını saptamak .

Bu çalışmaya katılmamanın maliyeti nedir? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceksiniz ve size de herhangi bir ödeme yapılmayacaktır.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

Çalışma doktorunuz kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Yalnızca gereği halinde, sizinle ilgili bilgileri etik kurullar ya da resmi makamlar inceleyebilir.

Daha fazla bilgi için kime başvurabilirim?

Çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksiniminiz olduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Dr. Melike GÜLER

GÖREVİ : Kadın Hastalıkları ve Doğum Asistan Doktoru

TELEFON : 05376365884

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde çalışmakta olan Dr. Melike GÜLER tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersen, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim. Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. Araştırmadan elde edilen benimle ilgili kişisel bilgilerin gizliliğinin korunacağını biliyorum. Araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim). Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Melike GÜLER, (telefon: 05376365884 , ve adresi: Ankara Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi) arayabileceğimi biliyorum. Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiç bir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Görüşme tanığı:

Adı, soyadı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel:

İmza:

Tarih: