



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI



**PRİMER OVER YETMEZLİKLERİNDE
GERİ DÖNÜŞÜ ETKİLEYEN GENETİK FAKTÖRLER**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Gizem KAVAL KARAOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Semih KALELİ

İSTANBUL – 2022

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

PRİMER OVER YETMEZLİKLERİNDE
GERİ DÖNÜŞÜ ETKİLEYEN GENETİK FAKTÖRLER

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Dr. Gizem KAVAL KARAOĞLU

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Semih KALELİ

İSTANBUL – 2022

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez sürecimde hep desteğini hissettiğim tez danışmanım Prof. Dr. Semih Kaleli'ye, anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. İsmail Çepni ve diğer tüm hocalarıma, beraber çalışma fırsatı bulduğum herkese ve canım çekirdek ve geniş ailelerime her şey için teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Simge ve Kısaltmalar.....	I
Şekiller Dizini	III
Tablolar Dizini	IV
Etik Kurul Onayı	V
Finansal Destek	VI
Özet	VII
Abstract	IX
1. Giriş	1
2.Genel Bilgiler.....	4
2.1. Primer Over Yetmezliği	4
2.1.1 Hastalığa Genel Bakış	4
2.1.2 İsimlendirme	5
2.1.3 Tanım	6
2.1.4 Prevalans	7
2.1.5 Semptomlar	7
2.1.6 Tanı	8
2.1.7 Etiyoloji	8
2.1.7.1 Otoimmün Over Hasarı	9
2.1.7.2 Enfeksiyonlar	10
2.1.7.3 İyatrojenik Sebepler	10
2.1.7.4 Çevresel Etkenler	11

2.1.7.5 Genetik Nedenler	11
2.1.8 POY Yönetimi ve Tedavi	12
2.2. Yeni Nesil Dizileme	14
2.3 POY ve Genetik Çalışmalar	15
3. Gereç ve Yöntem	17
3.1 İzin Süreci	17
3.2 Hasta Grubu	17
3.3 Genetik Analiz	18
4. Bulgular	19
5. Tartışma	32
6. Sonuç	37
7. Kaynaklar	38
8. Ekler	42
9. Özgeçmiş	46
10. İntihal Tarama Formu	47

SİMGE VE KISALTMALAR

POY: primer/prematür over yetersizliği/yetmezliği

FSH: folikül uyarıcı hormon

IU: international unit(uluslararası birim)

DNA: deksiribo nükleik asit

PCR: polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)

NGS: next generation sequencing (yeni nesil dizileme)

WES: whole exome sequencing (tüm ekzon dizileme)

ESHRE: European Society of Human Reproduction and Embryology

POI: premature ovarian insufficiency

ACOG: The American College of Obstetricians and Gynecologists

AMH: anti müllerian hormon

DM: diyabetes mellitus

SLE: sistemik lupus eritematozus

ITP: immün trombositopenik purpura

ACA: adrenokortikal antikor

Anti-21-OH AB: 21 hidroksilaz antikor

Anti-TPO: tiroid peroksidaz antikor

TSH: tiroid stimüle edici hormon

HIV: human immunodeficiency virus

SARS-COV2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

CMV: sitomegalovirüs

FMR1: fragile X mental retardation 1

PHT: postmenopozal hormon tedavisi

YÜT: yardımcı üreme teknikleri

IVF: in vitro fertilization

WGS: whole genome sequencing (tüm genom dizileme)

GWAS: genome-wide association studies (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları)

SNP: single-nucleotide polymorphism (Tek nükleotid polimorfizmi)

CNV: copy number variation (kopya sayısı varyasyonu)

BAP: bilimsel araştırma projeleri birimi

A3HP: adet in üçüncü günü hormon profili

AF: antral folikül

USG: ultrasonografi

GPYAC: gravida/parite/yaşayan/abortus/küretaj

SAT: son adet tarihi

GNAS: guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating locus

FMF: ailevi akdeniz ateşi

TFT: tiroid fonksiyon testleri

GDM: gestasyonel diyabetes mellitus

Ve ark.: ve arkadaşları

Et al.: et alii (and others/ve diğerleri)

L/T: laparotomi

C/S: sezaryen

RIA: rahim içi araç

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Çalışmaya alınan hastalar



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Hastaların demografik verileri

Tablo 2: WES sonuçları

Tablo 3: Olgu 1 özellikleri

Tablo 4: Olgu 2 özellikleri

Tablo 5: Olgu 3 özellikleri

Tablo 6: Olgu 3 sekonder mutasyonlar

Tablo 7: Olgu 4 özellikleri

Tablo 8: Olgu 4 primer mutasyonlar

Tablo 9: Olgu 4 sekonder mutasyonlar

Tablo 10: Olgu 5 özellikleri

Tablo 11: Olgu 5 sekonder mutasyonlar

Tablo 12: Olgu 6 özellikleri

Tablo 13: Olgu 6 primer mutasyonlar

Tablo 14: Olgu 6 sekonder mutasyonlar

ETİK KURUL ONAYI

İÜC Tarih ve Sayı: 04.04.2019-53654



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Uzm.Öğr.Dr.Gizem KAVAL
KARAOĞLU'nun etik kurul
kararı A-45

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :13.03.2019 tarihli 41658 sayılı yazı.

Anabilim Dalımız öğretim üyesi **Prof.Dr.Semih KALELİ'nin** danışmanlığında **Uzm.Öğr.Dr.G.zem Kaval KARAOĞLU'nun** yürütücülüğünde "**Primer Over Yetmezliklerinde Geri Dönüşü Etkileyen Genetik Faktörler**" başlıklı Uzmanlık Tez çalışması hakkında ilgi yazınız ve ekleri **02 Nisan 2019** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup,Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Gökhan İPEK
Bölüm Başkanı

NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun ve Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Desteği onay belgesinin Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

EK :
1 dosya elden teslim edilecektir.

Doğrulamak için:<http://dogrulama.istanbulc.edu.tr/enVision.sorgula/belgedogrulama.aspx?V=BEAMEDYVF>

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Güler SOYDANER Dahili : 22300

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34303 Cerrahpaşa/ İSTANBUL

Tel : 0 (212) 414 30 00 Faks : 0 (212) 632 00 33

e-posta : ctfpersonel@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ : www.istanbulc.edu.tr

Bu belge,güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

FİNANSAL DESTEK

Bu proje İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir. (Proje ID: 36380)



ÖZET

Primer Over Yetmezliklerinde Geri Dönüşü Etkileyen Genetik Faktörler

Amaçlar: Primer over yetmezliği(POY), genetik, çevresel, iyatrojenik çeşitli sebeplerle, bazen de nedeni gösterilemeden idiyopatik olarak, kırk yaş altında gelişen klimakterik durum olarak özetlenebilir. Kadınların yaklaşık %1'ini etkileyen bu durum geliştikten sonra, overlerin tekrar fonksiyon kazanabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Literatürde POY etiolojisini ortaya koymak için yapılmış genetik çalışmalara rastlanırken, geri dönüşlerin genetik sebepleriyle ilgili yayın bulunmamaktadır. Çalışmamızda primer over yetmezliğinden geri dönüşleri etkileyen genetik faktörler araştırılarak literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, primer over yetmezliği tanısı koyulmuş ve en az bir yıl sonra geri dönüş bulgusu gösteren hastalar dahil edilmiştir. Geri dönüş bulgusu olarak spontan gebelik, postmenopozal hormon tedavisi(PHT) alınmayan dönemde normal adetün üçüncü günü hormon profili ve PHT alınmayan dönemde spontan menstruasyonların olması kabul edilmiştir. Bu koşulları karşılayan altı hastanın periferik kan örneklerinden tüm ekzon dizileme(WES) analizi yapılmış; saptanan varyasyonlar güncel veritabanlarıyla karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen altı hastanın dördü POY ile takip edilirken spontan gebe kalan, ikisi ise PHT alınmayan dönemde normal hormon profilleri olan hastalardı. WES sonucunda bu hastaların birinde hastalık ilişkili ZP1 ve PSMC3IP genlerinde patojenik potansiyeli bilinmeyen, veritabanlarında kayıtlı olmayan iki yeni mutasyon, bir hastada da GNAS-AS1'de yine daha önce kayıtlı olmayan patojenitesi bilinmeyen bir mutasyon saptandı. Diğer dört hastada hastalık ilişkili genlerde mutasyon izlenmedi. Ayrıca bu altı hastanın WES sonuçları ortak varyantlar açısından tarandı ve bu hastalarda polimorfizm dışı ortak varyanta rastlanmadı.

Sonuç: Çalışmaya katılan hastaların hiçbirinde, hastalık ile ilişkili olup patojenik olduğu gösterilen hiçbir mutasyona rastlanmamıştır. WES sonucunda patojenik

olarak bildirilen diğer mutasyonların ise günümüz verileriyle POY ile ilişkisi bulunamamıştır.

Anahtar Kelimeler: primer over yetmezliği, erken over yetersizliği, over fonksiyon geri kazanımı, yeni nesil dizileme, tüm ekzon dizileme



ABSTRACT

Genetic Factors Affecting Resumption of Ovarian Functions in Primary Ovarian Insufficiency

Aim: Primary ovarian insufficiency (POI) can be summarized as a climacteric condition that develops under the age of forty, due to various genetic, environmental, iatrogenic reasons or sometimes idiopathic which means without any demonstrable cause. POI affects approximately 1% of women and there are studies pointing that the ovaries can regain function after this condition. While there are many genetic studies in the literature to reveal the etiology of POI, it's not possible to find a paper about the genetic background of the ovarian function resumption. In this study, we aimed to provide information to the literature by investigating and revealing possible genetic factors which play role in the resumption of ovarian functions after POI.

Material and Method: Patients who were diagnosed with primary ovarian insufficiency and showed signs of ovarian function resumption at least one year period after the diagnosis were included in the study. Spontaneous pregnancies, normal serum hormone profile in the period without postmenopausal hormone treatment(PHT) and spontaneous menstruations in the period without PHT were accepted as criterias of resumption. Whole exome sequencing (WES) was performed from peripheral blood samples of six patients who have one of these signs, and the detected variations were compared with the current databases.

Results: Four of the six patients included had spontaneous pregnancies after the POI diagnosis, besides two of them had normal serum hormone profiles in the period without PHT. As a result of WES, in one patient, two new mutations were detected in the disease-related ZP1 and PSMC3IP genes with unknown pathogenic potential and not registered in the databases, and again a previously unregistered mutation in GNAS-AS1 of unknown pathogenicity was detected in one patient. No mutations in disease-related genes were detected in the other four patients. In

addition, the WES results of these six patients were screened for common variants, and no common variants other than polymorphism were found in these patients.

Conclusion: None of the patients included in the study had disease-related mutations that were shown to be pathogenic. Other mutations reported as pathogenic as a result of WES could not be associated with POY with current data.

Keywords: primary ovarian failure, premature ovarian insufficiency, resumption of ovarian functions, next generation sequencing, whole exome sequencing



1. GİRİŞ

Kadınlarda reproduktif dönemin sonu, yani menopoz, kabaca menstrüel siklusun başka bir sebebe bağlı olmaksızın kalıcı olarak kesilmesi olarak tanımlanabilen ve bir yıl menstruasyon olmayışı ile retrospektif olarak tanımlanabilen durumdur[1]. Araştırmalara göre ortalama menopoz yaşı 52 olarak belirlenmiştir[1]. Türkiye Menopoz ve Osteoporoz Derneği'nin verilerine göre ise Türkiye'de ortalama menopoz yaşı 48-49'dur. Ancak tüm kadınların yaklaşık %1'inde bu durum kırk yaşın altında ortaya çıkmakta iken; otuz yaş altı kadınların %0,1'inde menopoz bulguları görülmektedir[2]. Bu da primer over yetersizliği (POY) ya da diğer adlarıyla erken over yetersizliği, prematür over yetersizliği tanımlarının ortaya koyulmasına sebep olmuştur. Bu tanımlara eskiden dendiği gibi "Erken Menopoz" tanımını eklemek her primer over yetmezliği olan olguda bu durum kalıcı olmadığı için doğru olmayacaktır[3]. Bir çalışmaya göre erken over yetersizliği tanısı almış hastaların %11 ila %46 arasında değişen bir oranla spontan ovulasyon yaşadığı, %3-10 kadarının da tanıdan yıllar sonra da olsa spontan gebe kalabildiği ortaya koyulmuştur[3].

Erken over yetersizliği kırk yaşın altında en az dört ay süre ile amenore olması ve dört haftadan daha uzun aralıkla olmak üzere iki farklı zamandaki serum FSH (folikül uyarıcı hormon) düzeylerinin menopozal aralıkta olması ile tanımlanabilir[4]. Hipoöstrojenizmin sonucu olarak primer over yetersizliği osteoporoz, osteoartrit ve artmış kardiyovasküler hastalık riski ile oldukça yakın ilişkilidir[5]. Menopoz ile benzer bir durum gibi görünse ve primer over yetersizliği tanısı almış hastalar menopoz dönemindeki kadınlarla benzer şikayetleri yaşasalar da; fertilitenin erken yaşta kaybı ve beklenen yaşam süresinin uzamasıyla beraber bu kadınların menopozal zaman diliminde daha fazla kalması sonucunda yaşam kalitelerinin düşmesi, bu alanda daha fazla çalışma yapılması gerekliliğini destekler niteliktedir. Çünkü günümüzde ortalama ilk doğum yaşı Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre otuzlara yaklaşırken primer over yetersizliği belirgin bir erken bulgu vermediği için hastalık genellikle son dönemde yakalanmaktadır.

Erken over yetersizliği tanısı kırk yaş altı, biyokimyasal belirteçlerin desteklemesi koşuluyla, oligo/amenore temeline dayanmaktadır. Bu amaçla esas alınan kriterler; en az dört ay süre ile oligo/amenore varlığı ve en az dört hafta ara ile iki kez serum FSH ölçümünün 25 IU/l üzerinde olmasıdır[6].

Primer over yetersizliği tanısı koyulmuş olguların küçük bir kısmında açıklanabilen enfeksiyon, metabolik hastalık, otoimmün bozukluk, radyasyon, kemoterapi, fiziksel hasar gibi bir sebep bulunurken; yüzde elli ila doksanlık kısmı idiyopatik olarak nitelendirilmektedir[5]. Ancak bu hastaların yaklaşık yüzde otuzunda etkilenmiş birinci derece akraba olması ve annesine erken over yetersizliği tanısı koyulmuş kadınların hastalık geliştirme riskinin altı kat fazla oluşu, genetik faktörlerin bu duruma katkısının büyük olduğunu düşündürmektedir[7,8]. Primer over yetersizliği tanısı ile takip edilen hastaların genetik analizleri sonucunda X kromozom defektleri, tek gen mutasyonları, çeşitli biyolojik yollara ait genetik polimorfizmler bu durumla ilişkili gibi gözükmemektedir[8]. İleri çalışmalarla bu genetik değişimlerin ortaya koyulması hastalığın erken tanısı ve yeni nesil gen tedavisi açısından hem riskli popülasyona hem de sağlık profesyonellerine katkı sağlayacaktır. Bu noktada da Genetik Bilimi ile işbirliği gündeme gelmektedir.

Genetik bilimindeki gelişmeler artan teknolojik gelişmelerle oldukça yakın ilişki içindedir. 1977'de Sanger ve ark.(ve arkadaşları) tarafından geliştirilen DNA dizileme yöntemi ve sonrasında 1986'da Mulis ve ark. tarafından belirli bir DNA bölgesinin laboratuvar koşullarında çoğaltılmasına olanak veren PCR (polimeraz chain reaction) işleminin keşfi bu bilimsel ilerlemede oldukça önemli adımlardır. Bu adımlardan sonra başlayan, tamamlanması yaklaşık on yıl süren ve üç milyar dolara mal olan ve yayınlandığında bilim dünyasında büyük yankı uyandıran İnsan Genom Projesi'nde de çoğunlukla, keşfinden bugüne kadar en çok kullanılan ve altın standart kabul edilen Sanger Dizileme Cihazları kullanılmıştır[9].

İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasını takip eden süreçte, maliyeti düşürmek ve süreyi kısaltmak amaçlı, ikinci nesil olarak adlandırılan bir dizi sekanslama yöntemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Yeni Nesil Dizileme (Next Generation Sequencing) olarak anılan bu yöntemin temel prensibi, enzimatik olarak kesilen ve çoğaltılan milyonlarca DNA parçasının eş zamanlı olarak paralel

dizilenmesi esasına dayanmaktadır. İlk olarak 2005 yılında piyasaya sürülen ve geliştirilmeye devam eden bu teknoloji, insan genomunda hastalık ilişkili genlerin oluşturulan paneller yardımıyla aynı anda dizilenmesi, ilişkili yeni genlerin bulunması, viral ya da bakteriyel yeni virulans faktörlerinin saptanması için etken mikroorganizmaların genom dizilenmesi gibi tanı ve tedavide yardımcı olacak birçok olanağın daha kısa sürelerde ve daha maliyet-etkin olarak gerçekleştirilmesini mümkün kılmıştır[10].

Bu bilgiler ışığında, bu tez çalışmasında, yeni nesil dizileme yöntemleri kullanılarak primer over yetersizliği ile ilişkili genleri ortaya koymak ve geri dönüşlerle ilişkili olabilecek dizilimleri belirlemek; bu sayede hastalığın genetik temeli ve yeni nesil gen tedavilerinin keşfi açısından literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Primer Over Yetmezliği

2.1.1. Hastalığa Genel Bakış

Primer over yetersizliği, ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) 2015 POI (Premature Ovarian Insufficiency - prematur over yetersizliği) Kılavuzunda, kırk yaşından önce over fonksiyon kaybıyla tanımlanan klinik bir sendrom olarak ifade edilmektedir[6]. Bu durum menstrüel düzensizliklerle beraber kanda yüksek gonadotropin ve düşük östradiol düzeyleriyle karakterizedir. Beklenen yaşam süresinin uzamasıyla beraber erken yaşta ortaya çıkan bu hadise kadınların menopozal zaman diliminde daha çok kalmalarıyla, dolayısıyla yaşam kalitelerinin daha uzun süreler düşük seyretmesiyle sonuçlanmaktadır. Bu sebeple ESHRE, kılavuzunda, POY'dan kaçınmak için gerekli çabanın gösterilmesini, sigara/hayat tarzı, jinekolojik cerrahiler, kötü huylu hastalıklarda güncel tedavi yaklaşımları gibi değiştirilebilir risk faktörlerini düzenlemek olarak önermiştir[6].

POY karşımıza en sık sekonder daha nadiren de primer amenore olarak çıkmaktadır. Bunun yanında hastalığın başlangıcındaki prodromal dönem sebebiyle adet düzensizlikleri ve fertilité isteği de hastaları doktora getiren diğer sebeplerdir. Tanı kriterleri hakkında net bir görüş birliği bulunmamakla beraber tanı, genel olarak adet düzensizliğinin biyokimyasal belirteçlerle ispatlanması temeline dayanmaktadır. ESHRE'nin tanı için ortaya koyduğu kriterler; kırk yaş altında en az dört ay süren oligo/amenore varlığı ve en az dört hafta arayla ölçülen iki serum FSH düzeyinin 25IU/l üzerinde olmasıdır[6].

POY etiolojisinde bir takım genetik, ailesel, otoimmün, metabolik ve çevresel sebepler suçlanmakla beraber hastaların büyük bölümünde yapılan tüm tetkiklere rağmen kesin bir neden ortaya koyulamamaktadır[11]. Bunun yanında etiyopatogeneizde öne sürülen asıl mekanizma çeşitli sebeplerle başlangıç over rezervinde azalma ve folikül yıkım hızında artmadır[12,13]. Genetik ve cerrahi sebepleri dışlayacak olursak, bu durumun da temelinde, genel yaşlanma sürecinde olduğu gibi, biriken oksidatif strese bağlı geri döndürülemez DNA hasarlarının ve bunun sonucunda apoptozisin de içinde olduğu biyolojik yollar olduğu

düşünülmektedir[12,13]. Bir çalışmada POY sebebi olarak ailesel genetik faktörler yüzde yirmi, X kromozomu anomalileri de yüzde on hastada sorumlu tutulmuştur[14]. Literatür incelendiğinde yapılan genetik çalışmalar sonucunda etiyopatogeneizde sorumlu olabilecek bir takım genlerin ortaya çıkarıldığı görülebilir. Bunun yanısıra, POY'dan geri dönüş yüzde on bir ile kırk altı arasında oranlarla bildirilmesine rağmen, bu durumla ilgili olabilecek genetik yapıyı ortaya koyabilen yeterince çalışma mevcut değildir.

Sebebi ne olursa olsun POY tanısı koyulduktan sonra tedavi yaklaşımları hastaları menopozun uzun dönem etkilerinden koruyabilmek adına multidisiplinerdir. Burada kadın hastalıkları ve doğum uzmanlarını asıl ilgilendiren kısım fertilité isteği ve düşük kan östradiol seviyeleri için postmenopozal hormon tedavisidir. Bunun için de altta yatan durumlara göre hasta özelinde hareket etmek uygun olacaktır[6].

2.1.2. İsimlendirme

Primer over yetersizliğini tanımlayan durum literatüre ilk olarak 1939 yılında adet gecikmesi ve üriner gonadotropin seviyelerinde artış olarak girmiştir[15]. O zamandan beri de bu erken gelişen hipergonadotropik oligo/amenore durumu için primer over yetmezliği, prematür over yetmezliği/kusuru, prematür menopoz, prematür over yetersizliği, erken menopoz, hipergonadotropik hipogonadizm, klimakterium prekoks, hipergonadotropik amenore gibi çeşitli isimler kullanılmaktadır. Doğrudan overle ilgili bir durum olduğu için, primer over yetmezliği/yetersizliği(primary ovarian insufficiency) tanımının, literatürde diğer isimlerin yerine kullanılmasını öneren çalışmalar mevcuttur; zira ACOG (The American College of Obstetricians and Gynecologists) da bu yönde görüş belirtmiştir[16,17]. Ancak, Aralık 2015'te toplanan ESHRE POI Kılavuz geliştirme grubu bu çeşitliliği ortadan kaldırmak için terminolojide tek bir isimde fikir birliğinde olunmasını önermiştir. Literatürde en çok kullanılan isim "Primer Over Yetersizliği" olarak göze çarpsa da ESHRE uzman görüşü olarak "Prematür Over Yetersizliği (Premature Ovarian Insufficiency)" teriminin kullanılmasını önermiştir[6]. Türkçe literatür için ortak bir görüş bulunmasa da bizce durumu en iyi anlatan terimin "erken over yetersizliği" olduğu söylenebilir.

2.1.3. Tanım

Primer over yetersizliğini tanımak ve tanımlamak, takip ve tedavi şekli farklı olan bu hasta grubunu normal menopozal dönemdeki kadınlardan ayırmak adına önemlidir. Bunun için de fizyolojik olan menopozal diğer adıyla klimakterik dönemi bilmek önemlidir. Kadınlarda reproduktif dönemin sonu, kabaca menstrüel siklusun başka bir sebebe bağlı olmaksızın kalıcı olarak kesilmesi olarak tanımlanabilen ve bir yıl menstruasyon olmayışı ile geriye dönük olarak tanı koyulabilen durumdur ve literatürde ortalama menopoz yaşı 52 olarak belirtilmiştir[1]. Erken over yetersizliğinde ise bu durum kırk yaşından önce ortaya çıkmaktadır. Ancak POY tanısı alan kadınlar sadece vazomotor semptomlar gibi östrojen eksikliğiyle ilişkili durumlarla ilgili sıkıntı yaşamazlar; POY'un erken yaşta ortaya çıkması, bu hasta grubunu yaşam kalitesini düşüren psikolojik problemlerle de karşı karşıya bırakır[18]. Bunlara ek olarak POY takipli hastalarda kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar, osteoporoz gibi durumların da riski artmıştır; ve bu hastalıklarla ilişkili mortalite oranları doğal menopoz sonrası kadınlardan yüzde elli daha yüksek bulunmuştur[19].

POY genel olarak kırk yaşın altında over fonksiyon kaybıyla oluşan amenore şeklinde açıklanabilir ve kanda yüksek gonadotropin ve düşük östrojen seviyeleriyle karakterizedir. Erken gelişen bu hipergonadotropik hipogonadizm durumu karşımıza primer ya da sekonder amenore şeklinde çıkabilir. Etiyolojisinde kromozomal ve genetik defektler, otoimmün süreçler, kemo/radyoterapi, enfeksiyonlar, cerrahiler gibi çeşitli sebepler suçlansa da yaklaşık yüzde sekseninin nedeni halen gösterilememiştir ve literatürde idiyopatik olarak geçmektedir[5,20].

POY hastalarının tanımlanmasında bir diğer önemli nokta da fertilitate problemleridir. Burada da karşımıza düşük ve azalmış over rezervi tabloları çıkar. Düşük over rezervi daha çok yaşla ilişkilendirilse de azalmış over rezervi ve POY aynı spektrumda düşünülebilir[6]. Bu hasta grubunu erken tanımak fertilitate desteği ve sonrasındaki hormonal tedavi açısından önemlidir.

2.1.4. Prevalans

POY prevalansı incelenen yeterince güncel çalışma bulunmasa da, literatürde farklı yıllarda yapılan farklı merkezli çalışmaların sonuçları benzerdir ve prevalans genel olarak kırk yaş altında yüzde bir; otuz yaş altında ise binde birdir[2,6,21]. Bir çalışmada kırk ila kırk dört yaş aralığı erken menopoz olarak ifade edilmiş ve bu grupta prevalans yaklaşık on kat daha yüksek bulunmuştur[21]. POY tanısı alan hastaların %11-46 spontan ovulasyon yaşadığı ve %3-10 kadarının da tanıdan yıllar sonra da olsa spontan gebe kalabildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur[3,22].

2.1.5. Semptomlar

POY hastaları adet düzensizliklerinden tipik menopozal semptomlara kadar çeşitli şikayetlerle hastaneye başvurabilirler. Menstrüel düzen dışı semptomları genel olarak sıralamak gerekirse; ateş basmaları, gece terlemeleri gibi östrojen eksikliği kaynaklı vazomotor semptomlar, kuruluk, disparoni gibi vajinal semptomlar (ki bu semptomlar hasta popülasyonu genç yaş olduğu için psikolojik olarak da kötü etkilere sahiptir) ve uyku bozuklukları, konsantrasyon güçlüğü, ruh hali değişikliği, enerji düşüklüğü, kuru göz, libido azlığı, sık idrara çıkma gibi diğer semptomlar olarak özetlenebilir[18,23,24].

POY semptomları sürekli ya da aralıklı, geçici ya da kalıcı olabilir. Bu duruma sebep olarak da POY hastalarının bir kısmında bu süreçte over fonksiyonlarının spontan olarak geri gelebildiği gösterilebilir[3,17]. Bunun yanı sıra bu semptomlar primer ya da sekonder amenoreyle beraber gelişmesine göre de değişiklik gösterebilir. Primer amenoreyle POY tablosu gelişen kadınlar östrojen eksikliğine bağlı şikayetleri çok fazla hissetmezken, sekonder amenoreyle başvuranlar östrojen eksikliğine bağlı semptomları, başlangıç östrojen seviyelerindeki değişiklikler nedeniyle, daha çok yaşarlar denebilir[25]. Ancak, bu hastalar hormon tedavisi almasalar dahi, bu semptomlar zamanla gerileyecektir, yine de süre değişkendir ve öngörmek mümkün değildir.

Bu bilgiler ışığında ESHRE 2015 kılavuzunda, oligo/amenore şikayetiyle başvuran kırk yaş altı her hastada bu semptomların sorgulanmasını ve semptomları mevcut her hastada da POY dışlanmasını önermektedir[6].

2.1.6. Tanı

POY tanı kriterleriyle ilgili tam bir görüş birliği bulunmasa da ortak paydada buluşulan nokta dört ila altı aylık amenore ve kanda yüksek FSH ve düşük östradiol seviyeleridir. Bazı kaynaklarda FSH yüksekliği altın standart kabul edilmekle beraber sınır(cut-off) değerle ilgili fikir ayrılıkları mevcuttur. Literatür tarandığında FSH için daha çok 40IU/l üzeri yüksek olarak kabul edildiği görülebilir. Ancak güncel yayınlarda bu değer, özellikle otoimmün sebeplerle gelişen POY'larda FSH seviyesi daha düşük olabildiği için, 25IU/l kabul edilmesi gerektiği savunulmuştur[26].

Kesin kriterler olmamakla birlikte en çok kabul gören, bu çalışmada da kullanılan, ESHRE 2015 kılavuzundaki tanı kriterleridir. Bunlar; kırk yaş altı en az dört ay amenore varlığına eşlik eden en az dört hafta ara ile ölçülmüş iki FSH değerinin 25IU/l üzerinde olmasıdır[6].

Tanı için kesin gerekli olmamakla birlikte süreci öngörmede klinisyenlere yardımcı olabilecek birtakım testler de son dönemde kullanıma girmeye başlamıştır. Bunlardan en bilineni serum Anti-Mülleryan hormon (AMH) düzeyidir. AMH, antral ve preantral foliküllerin granuloza hücrelerinden salınan bir hormondur. Çeşitli çalışmalarda düşük AMH düzeylerinin over rezervini göstermede kullanılabileceği, ve ölçülemeyecek düzeylere indikten sonra beş yıl içinde menopozun gelişeceğini öngörebileceği gösterilmiştir[27,28].

POY hastalarında ovulatuvar fonksiyonlar zaman zaman izlenebileceği için ultrasonografinin tanıdaki yeri tartışmalıdır. Over biyopsisinin ise invaziv bir işlem olması sebebiyle POY tanısında yeri yoktur.

2.1.7. Etiyoloji

POY etiolojisinde sorumlu tutulan birçok faktör olmakla birlikte, tanı koyulmuş kadınların ayrıntılı incelenmesi neticesinde halen en büyük grubu nedeni belirlenemeyen idiyopatik POY grubu oluşturmaktadır[12,20]. Etiyolojide ilişkili durumlar ele alındığında bunları altı başlık altında gruplamak uygun gibi görünmektedir: genetik, otoimmün, iyatrojenik, enfeksiyöz, çevresel ve idiyopatik. Her ne kadar etiyojjiye göre bu şekilde sınıflandırılrsa da POY, birden fazla faktörün

etkileşimiyle de meydana gelebilen heterojenik bir hastalık olarak göze çarpmaktadır.

POY patogeneğinde ise temel olarak başlangıç over folikül rezervinde azalma ve folikül yıkım hızında artma olmak üzere iki nokta öne çıkmaktadır[13,14]. Etiyolojideki faktörlerin bu iki noktayı etkileyerek POY'a sebep olduğu düşünülmektedir. Bunları ortaya koymak güncel tedavi yaklaşımları açısından da önemlidir. Bilimdeki gelişmelerle beraber belki de ileride bazı özel durumlarda hastalığın oluşmasını baştan engellemek mümkün olacaktır.

2.1.7.1 Otoimmün Over Hasarı

POY görülme sıklığı otoimmün hastalığı olan kadınlarda artmaktadır. Benzer şekilde POY tanısı almış kadınlarda da diğer otoimmün hastalıklar daha çok görülmektedir. Ancak bu durumun otoimmün hastalıkların POY gelişimine sebep olmasından mı yoksa rastlantısal olarak beraber bulunmasından mı kaynaklandığı net olarak açıklanamamıştır[26]. Burada bir istisna göze çarpar: otoimmün Addison Hastalığı'nın otoimmün poliendokrin sendrom ve POY gelişimi için predispozan olduğu bazı yayınlarda gösterilmiştir[29]. Bunun yanı sıra otoimmün POY grubunun %60-80 oranında adrenal kaynaklı otoimmünite ile olması bu ilişkinin klinik önemini ortaya koymaktadır[29]. Her ne kadar en ilişkili durum adrenal gibi görülse de POY'un tiroid, paratiroid, hipofiz, tip1 DM (diyabetes mellitus) gibi endokrin ve/veya Sjögren, SLE, Çölyak Hastalığı, alopesiler, romatoid artrit, ITP, Myastenia Gravis gibi birçok endokrin olmayan otoimmünitelerle beraber seyredebileceği akılda tutulmalıdır. Bu sebeple ESHRE 2015 POI Kılavuzu'nda POY tanısı alan hastaların, eğer immün bir sebepten şüpheleniliyorsa Anti-21OH-Ab veya adrenokortikal antikor (ACA) ve Anti-TPO (beraberinde yıllık TSH) ile taranmasını önermektedir. Bu testlerin sonucunda antikorların negatif olması halinde, klinik şüphe oluşmazsa, tekrar antikor taranmasına gerek olmadığı; ancak antikorların pozitif olması durumunda hastaların endokrinoloji bölümüne sevk edilmesi gerektiği belirtilmiştir[6].

2.1.7.2. Enfeksiyonlar

Literatürde POY gelişiminin kabakulak, HIV, influenza, SARS-CoV2, herpes zoster, CMV, tüberküloz, malarya, suçiçeği ve şigella gibi birçok enfeksiyonu takiben gelişebildiği gösterilmiştir[30]. Ancak kabakulak hariç hiçbir enfeksiyonun POY ile birebir ilişkisi ve POY gelişimine etkisi gösterilememiştir[31]. Buradan hareketle, POY tanısı alanlarda enfeksiyonların taranması gibi bir gerekliliğin olmadığı çıkarımı yapılabilir.

2.1.7.3. İyatrojenik Sebepler

Etiyolojisi belli olan POY hastalarında %25 sebebin iyatrojenik olduğunu söyleyen yayınlar mevcuttur[32]. Over hasarına sebep olabilecek cerrahiler, kemoterapi ve radyoterapi yöntemleri, tahmin edilebileceği gibi, POY gelişiminden sorumlu tutulabilirler.

Her ne kadar histerektomi ve tubal sterilizasyon operasyonlarının POY ilişkili olabildiğini söyleyen, güncel olmayan birkaç çalışma mevcut olsa da, literatürde bu cerrahilerin POY sebebi olabileceğini gösteren yayın bulunamamıştır[33,34]. Overe yönelik cerrahiler, özellikle endometriyozis cerrahileri, menopoz yaşının erkene çekilmesine ve POY gelişimine sebep olabilirler. Ancak daha çok bilateral endometriyoma cerrahileri POY ile ilişkili bulunmuştur[35]. Unilateral endometriyoma ve diğer sebeplere bağlı cerrahiler daha çok operasyon sonrası AMH düşüklüğü ve azalmış over rezerviyle ilişkilidirler[36,37].

Kemo/radyoterapi ve POY ilişkisi süre, bölge, doz ve yaş bağımlıdır. Radyoterapide abdominopelvik bölge ışınlaması en büyük risk faktörü olarak göze çarparken; kemoterapötik ajanlardan en çok alkilleyicilere maruziyetin POY sebebi olduğu gösterilmiştir[38,39]. Ancak gerek kemoterapi gerek radyoterapi sonrası prognoz izlendiğinde, literatürde overlerin rejenerasyon kapasitesini küçümsememek gerektiğini gösteren çalışmalar mevcuttur[6].

2.1.7.4. Çevresel Etkenler

Sigara, alkol, beslenme şekli, endokrin bozuculara maruziyet gibi çevresel faktörlerin, vücudun geneline olduğu gibi, overlere de toksik olduğu düşünülmektedir. Her ne kadar bu durumlarla menopoz yaşının erkene çekilmesi ilişkilendirilse de bu etkenlerin direkt POY nedeni olduğu çalışmalarda gösterilememiştir. Bu çevresel etkenlerden de en çok sigara üzerinde durulmaktadır. Direkt olarak POY sebebi olmasa da sigara erken menopoz yaşı ile ilişkilidir[40]. Bu yüzden ESHRE, POY durumuna yatkın olabilecek kadınlara sigarayı bırakmalarını önermektedir[6].

2.1.7.5. Genetik Nedenler

Çalışmalar göstermiştir ki POY tanısı alan kadınların yüzde on ila on ikisinde, büyük çoğunluğu X kromozom kaynaklı olmak üzere, genetik anomaliler mevcuttur[14]. Türkiye’de yapılan bir çalışmada ise bu oran yüzde yirmi beş olarak gösterilmiştir[41]. Primer amenore şikayetiyle başvuran olgularda karyotip anomalileri, sekonder amenoreyle tanı koyulanlara göre daha sık izlenmektedir[42,43]. Özellikle cinsiyet kromozomlarıyla ilişkili anomalilerin, tespit edilmeleri halinde hastalık yönetimi etkileneceğinden, POY tanısı alan kadınlarda karyotip analizi sık kullanılan bir testtir.

POY ile ilişkisi 1990’lı yıllarda keşfedilen ve üzerinde yapılmış çok çalışma mevcut olan bir diğer anomali de FMR-1 mutasyonudur. Frajil X Sendromu, X kromozomu üzerinde taşınan FMR-1 (Fragile X mental retardation 1) gen mutasyonu ile ortaya çıkan, etkilenen bireylerde, daha çok erkeklerde olmak üzere, mental retardasyonla kendini gösteren bir durumdur. Mutasyon tanısı için CGG tekrar sayısına bakılan bu genin POY tanısı almış kadınlarda taranması, POY etiyolojisini ortaya çıkarmaktan çok, genetik danışmanlık açısından önemlidir ve tüm POY olgularında taranması önerilmektedir[6]. Normal kişilerde CGG tekrar sayısı 45’in altında olup, 45-54 arası gri bölge (intermediate), 55-200 arası premutasyon, 200’ün üzeri ise tam mutasyon olarak adlandırılmaktadır[44]. Tam mutasyonlar Frajil X sendromu ile ilişkili olup, premutasyonların ise POY ile ilişkili olduğu gösterilmiştir[44].

Gelişen genetik teknolojilerle birlikte, POY gelişiminde etkisi olduğu düşünülen otozomal ve cinsiyet ilişkili birçok gen mutasyonu tanımlanmıştır. Normal over gelişim ve fonksiyonları açısından, POI1 ve POI2 genlerini de içeren, Xq13.3'ten Xq27'ye kadar olan bölge kritik öneme sahip gibi görünmektedir. Bu bölgelerdeki özellikle COL4A6, DACH2, DIAPH2, NXF5, PGRMC1, POF1B ve XPNPEP2 genlerindeki mutasyonların POY gelişimi etiolojisinde rol oynadığı çeşitli yayınlarda ifade edilmiştir[45].

Bunların yanında, yeni nesil dizileme (NGS) teknolojisindeki ilerlemeler, idiyopatik olarak tabir edilen POY grubunun moleküler temellerine dair literatüre ciddi katkı sağlamıştır. Geniş bir bölgeyi hızlı dizileme imkanı sunan yöntemler sayesinde, son yıllarda iyi bilinen genlere ek olarak hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen yeni mutasyonlar da tanımlanmıştır. Bu keşifler doğrultusunda, hastalık etiolojisinde mayoz bölünme ve DNA tamir ilişkili genlerin kilit rol oynadığı söylenebilir. Hastalıkla ilişkili olduğu gösterilen genlerden iyi bilinenleri FSHR, GDF9, BMP15, FIGLA, NOBOX, NANOS3, EIF4ENIF1, FSHR, LHCGR, NR5A1, STAR, SOHLH1, SOHLH2, LHX8, MVM8, MCM9, STAG3, PSCM3IP, HFM1, NUP107, SYCE1 iken; yeni ilişkilendirilen genler ise BMPR2, GJA4, CX37, KHDRBS1, FGFR2, ATG7, ATG9A, POLR3H, POLR3A, POLR3B, NOTCH2, SPIDR, MSH4, MSH5, FANCM, BNC1, WDR62, BRCA2, TP63, POLR2C, MRPS22 olarak toparlanabilir[45]. Bulunan bu mutasyonların toplandığı veritabanlarından biri olan ve bu çalışmada da yararlanılan Clinvar'da "premature ovarian failure", "primary ovarian insufficiency", "premature ovarian insufficiency", "primary ovarian failure" olarak arama yapıldığında, binden fazla mutasyonun hastalık ile ilişkili olarak kaydedildiği göze çarpmaktadır.

2.1.8. POY Yönetimi ve Tedavi

POY tanısı koyulduktan sonra şüphesiz ilk yapılması gereken, diğer birçok hastalıkta da olduğu gibi, hastaya bu durumu, yeterli bilgiyi aktararak, hastalığın psikolojik etkilerini de gözeterek nazik bir şekilde açıklamaktır. Bir çalışmaya göre, hastalık haberini ilk aldıklarında kadınlar kendilerini "harap olmuş, şok olmuş ve kafası karışmış" olarak ifade etmişlerdir[46]. Hastaların yaş grubu olarak genç olmaları ve büyük kısmının fertilitate beklentileri de göz önünde bulundurulduğunda, psikolojik destek açısından hastayla iletişimin önemi daha net anlaşılabilir.

Tanı koyulup hastaya açıklandıktan sonra, östrojen eksikliğine bağlı vazomotor semptomlar, fertilité isteği, seksüel fonksiyonlar, artmış kardiyovasküler hastalık ve osteoporoz riski, otoimmün hastalıklara yatkınlık, psikolojik durum ve yaşam kalitesi gibi birçok faktörü düşünerek kapsayıcı bir şekilde hastalığı ve tedaviyi yönetmek uygun olacaktır. Medikal tedavide ilk yaklaşım postmenopozal hormon tedavisidir (PHT) ve hem ACOG hem ESHRE kılavuzlarında, kontraendikasyon olmadığı sürece, doğal menopoza yaşına kadar(45-50 yaş) PHT kullanımı önerilmiştir[6,16]. Hormon tedavisinde asıl amaç, eksik östrojeni normal fizyolojiye en uygun şekilde yerine koymak ve bunu yaparken de endometriyumu karşılanmamış östrojen etkisinden korumaktır. Bu amaçla östrojen ve progesteron içeren tedavi seçeneklerinden biri tercih edilebilir. Bu tedavi şekillerinin birbirine üstünlüğünü gösteren yeterli çalışma olmamasının yanısıra, tüm tıbbi durumlarda olduğu gibi, hasta uyumunun tedavi başarısındaki önemi düşünüldüğünde hangi yöntemin seçileceğine hasta özelinde karar vermek uygun olacaktır.

Fertilité açısından yaklaşıldığında, fertilité isteği olan ve kontrasepsiyon isteği olan hastaların ayırımını yapmak önemlidir. Çocuk isteği olanlara, hastanın durumuna bağlı olarak, yardımcı üreme tekniklerinden (YÜT) in vitro fertilizasyon (IVF) veya oosit ya da embriyo donasyonu önerilir. Kontrasepsiyon isteyen hastalarda ise, hastalığın doğal seyrinde PHT alırken dahi spontan ovulasyon ve gebeliklerin oluşabileceği göz ardı edilmeden uygun kontraseptif yöntemle tedavinin desteklenmesi uygun olacaktır[3,16].

Tedavi yönetiminde son olarak POY tanılı hastaların genel yaşam kaliteleri, psikolojik destek ihtiyacı, artmış otoimmünite yatkınlığı ve eşlik edebilecek multisistemik problemler düşünülerek multidisipliner bir yaklaşım benimsemek hem takip eden hekim hem de hasta açısından avantajlı görünmektedir.

2.2. Yeni Nesil Dizileme

Eski çağlardan beri insanlar bireyleri akrabalarına benzeterek, bilimsel birikimleri olmasa da genetik bilimine dair ilk gözlemlerini yapmışlardır. Öncesinde bu gözlemle ilgili filozoflar tarafından pek çok farklı teori ortaya atılsa da, Mendel'in 19. yüzyıl ortalarında yaptığı deneyler genetik biliminin başlangıcı kabul edilebilir. "Genetik" teriminin literatürde ilk kullanımı ise İngiliz biyolog William Bateson tarafından 1905'te olmuştur. Bilimsel açıdan kısa sayılabilecek yüz yıl gibi bir sürede, temelleri ve işleyişi henüz ortaya çıkarılan bu kalıtım biliminde, teknolojik gelişmelerin de katkısıyla tüm insan genomunu dizileyebilecek noktaya gelinmiştir.

Genom dizileme yöntemleri iki ana başlık altında incelenebilir. Bunlardan geleneksel olanı, İnsan Genomu Projesinde de kullanılan, halen doğrulama yöntemi olarak altın standart kabul edilen, 1977'de Sanger ve arkadaşları tarafından geliştirilen Sanger Dizileme Yöntemidir. Bu yöntem temel olarak 3'OH grubu dehidroksile edilmiş nükleotidler olan dideoksinükleotidler (ddNTP) kullanarak DNA zincir uzamasının durdurulması prensibine dayanmaktadır[47]. Sanger Metodu DNA'nın yaklaşık olarak beş yüz ila dokuz yüz bazlık kısmını dizileyip okuma olanağı sunar. Günümüzde Sanger metodu, genel olarak hastalığa özgü genlerin test edilmesi ve diğer testleri doğrulama yöntemi olarak kullanılmaktadır[47,48].

Sanger dizileme yüksek doğruluk avantajının aksine, geniş gen bölgelerinin uygun maliyet ve kısa zamanda okunmasında yetersizdir. Bu sebeple son yıllarda çok sayıda DNA parçasını paralel olarak eşzamanlı okumaya olanak sağlayan, ikinci nesil dizileme olarak da adlandırılan, yeni nesil dizileme yöntemleri geliştirilmektedir. İlk cihazı 2005 yılında kullanıma sunulan NGS teknolojisi sayesinde, üç milyarın üzerinde baz çiftinden oluşan insan genomunu günümüzde daha düşük maliyetle bir gün gibi kısa bir sürede dizilemek mümkündür[47,48]. Bunların yanında daha hızlı ve düşük maliyetli dizilemeyi ve daha yüksek doğrulukla okumayı hedefleyen, ancak henüz klinik olarak kullanıma girmemiş olan üçüncü nesil dizileme yöntemleri de geliştirilmektedir.

Yeni nesil dizileme temel olarak, izole edilen DNA'nın çok sayıda küçük parçalara bölünüp, daha sonra bu parçaların laboratuvar ortamında çoğaltılıp

milyonlarca DNA parçasının eş zamanlı paralel olarak dizilenmesi prensibini kullanır[47]. Amaç kesilmiş DNA parçalarından bir kütüphane oluşturmak, daha sonra incelenen genom parçalarını, oluşturulan veritabanlarında önceden normal olduğu kabul edilen ve referans alınan bir genom ile kıyaslayarak değişimleri bulmaktır[48]. İzolasyon için ise çekirdeği olan herhangi bir hücre kullanılabilmele birlikte klinikte en çok tercih edilen periferik kandaki lökositlerdir.

NGS yöntemleri, tüm genom dizileme (WGS), tüm ekzon dizileme (WES), hedeflenmiş gen paneli olarak kullanılmaktadır. WGS kısa sürede tüm genomu dizileme imkanı sunmakla beraber, dizileme DNA'nın protein kodlamayan sessiz bölgelerini de içerdiğinden veri boyutu çok büyümekte ve maliyet yüksek olmaktadır. DNA'nın protein kodlayan bölgeleri olan ekzonlar, tüm genomun yaklaşık %2'sini oluşturmakta ancak hastalık ilişkili olduğu bilinen mutasyonların %85'inden fazlası bu bölgelerde meydana gelmektedir. Bu yüzden klinikte, protein kodlamayan bölgelerdeki mutasyonları kaçırmayı göze almak şartıyla, maliyet ve süre etkinliği açısından WES kullanımı daha kabul edilebilir bir yaklaşım olarak görünmektedir. Hedeflenmiş gen paneli ise, belli bir hastalıkla ilişkili olduğu bilinen on ila iki yüz genden oluşturulan gruplardaki mutasyonlar incelendiği için, klinikte daha çok ailesel hastalıklarda riskli bireyleri taramak amacıyla kullanılmaktadır[48].

2.3. POY ve Genetik Çalışmalar

Bilindiği üzere POY etiolojisinde genetik sebeplerin de olduğu bir hastalıktır. Bu sebepleri ortaya koymak adına POY tanılı hastalarda karyotip ve FMR1 gen mutasyonu analizi rutin uygulanan testlerdir. Ancak hastaların büyük kısmında bu testler normal olarak bildirilmekte ve yüzde elliden fazla bir oranla idiyopatik POY grubu en geniş alt grubu oluşturmaktadır[49]. Aile hikayesi olan ancak testlerle idiyopatik olarak değerlendirilen POY grubundan hareketle, bu hastalığın genetik temellerinin halen tam aydınlatılmadığını söylemek yanlış olmayacaktır[49].

Hastalıkların genetik temellerini ortaya koymak ve aday genleri belirlemek için kabaca, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (genome wide association studies – GWAS) ve bağlantı analizleri olarak iki temel yaklaşımın benimsendiği

söylenir. GWAS etkilenmiş bireylerdeki tek gen ve kopya sayısı değişimlerini içeren polimorfizmleri (SNP ve CNV) kontrol grubuyla kıyaslayarak hastalıkla ilişkili olabilecek aday gen lokuslarını belirlemeyi amaçlarken; bağlantı analizleri ise ilgili bölgedeki genetik belirtecin kalımsal takibi yöntemini kullanır.

2008'de Kore'de yapılan ve POY alanında literatürdeki ilk GWAS olarak rastlanan çalışmadan itibaren günümüze kadar yapılmış çalışmalarla, hastalık ilişkili olabilecek yetmiş beşten fazla gen ortaya sürülmüştür ve halen de bu konuda çalışmalar devam etmektedir[45].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. İzin Süreci

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 02.04.2019 tarih ve 83045809-604.01.02 sayılı yazısı doğrultusunda, BAP desteği alınması koşuluyla onaylanmasının ardından İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üreme Endokrinolojisi, İnfertilite ve Menopoz Polikliniği'ne başvuran hastalar dahil edilerek prospektif olgu serisi olarak gerçekleştirilmiştir. Bu süreçte İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimi'nden TTU-2022-36380 proje kodu ve 36380 proje numarasıyla destek onayı alınmıştır.

3.2. Hasta Grubu

Çalışma için etik kurul onayını takiben Nisan 2019 - Haziran 2022 arasında en az bir kez Endokrinoloji ve Menopoz Polikliniği başvurusu bulunan, ilk başvuru sırasında ya da takiplerde POY tanısı alan hastalar takibe alınmıştır. POY tanısı için ESHRE 2015 POY Kılavuzu'nda da belirtilen kırk yaş altında en az dört ay oligo/amenore varlığı ve en az dört hafta ara ile yapılan iki serum FSH ölçümünün 25IU/l üzerinde olması kriterleri kullanılmıştır. Çalışma için POY geri dönüş kriterleri ise tanıdan en az bir yıl sonra herhangi bir zamanda spontan gebelik olması veya adetini üçüncü günü normal hormon profili (A3HP) olması veya hormon tedavisi alınmayan dönemde spontan menstruasyonların olması olarak belirlenmiştir. A3HP için kan örnekleri PHT kesildikten iki hafta sonra alınmıştır.

POY tanısı aldıktan en az bir yıl sonra yukarıda sayılan geri dönüş kriterlerinden en az birini karşılayan ve çalışma için gönüllü olup onam formunu imzalayan hastalar çalışmaya dahil edilirken, onam vermeyen hastalar çalışmaya alınmamıştır.

Çalışmaya katılan hastalardan yazılı onam alınmış (Ek-1) ve her hasta için değerlendirme amacıyla oluşturulan ayrı bir form doldurulmuştur (Ek-2).

3.3. Genetik Analiz

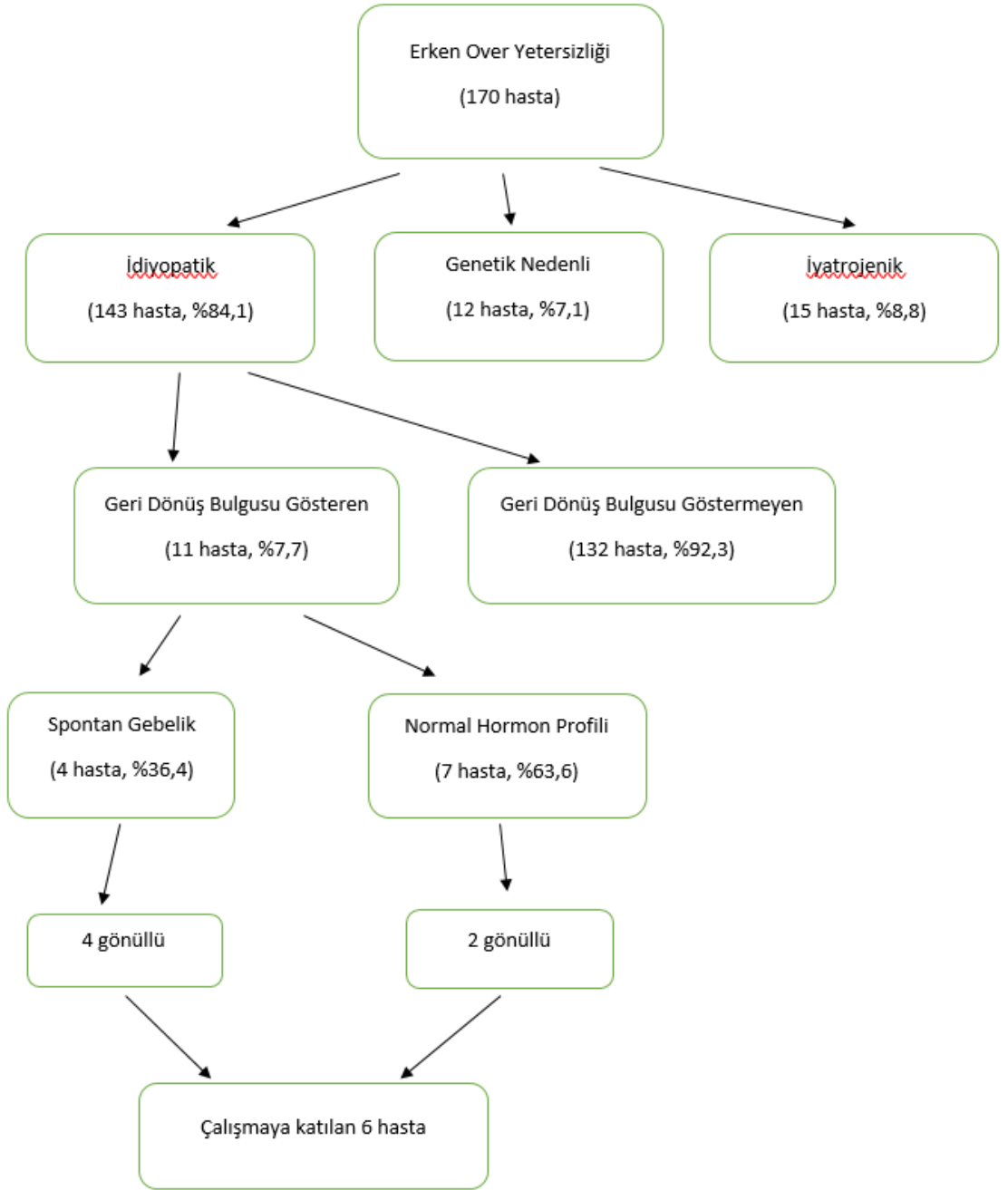
Çalışma; hasta sayısı azlığı, maliyet, geniş kapsamlı inceleme yapılması amacı gibi faktörler göz önünde bulundurularak WES analizi olarak kurgulandı. Genetik inceleme yapılmak üzere hastalardan alınan periferik venöz kan örnekleri EDTA'lı tüplerde toplanıp +4 derecede soğuk zincir korunarak WES analizi için anlaşılan *Invitrotek Sağlık Ürünleri ve Hizmetleri A.Ş.* isimli özel laboratuvara teslim edildi. Örnekler *MGI G400 DNBSEQ-G400* cihazı ile *Twist Ekzom* kitinde çalışıldı. Sonuçlar *DNA Laboratuvarları Genetik Hastalıklar Değerlendirme Merkezi (Sağlık Bakanlığı ruhsat numarası: GHDM-SM/34.10/01)* tarafından değerlendirilmiş ve raporlanmış olarak tarafımıza iletildi. Saptanan mutasyonların patojenitelerini değerlendirmek için, bilinen yirmiden fazla modelleme programını (*SIFT, PolyPhen, Mutation Taster vb.*) kendi algoritması ile değerlendirip genetik varyantın patojenitesini öngörmeye yarayan bir modelleme yöntemi olan DANN Skorlama Sistemi kullanıldı. Bu mutasyonlardan ekzonik bölgelerde olanlar için DANN Skoru 0,995 ve üzeri, uçbirleştirme (splicing) bölgelerindekiler için ise 0,980 ve üzeri olanlar patojenik olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Nisan 2019 - Haziran 2022 arasında en az bir kez Endokrinoloji ve Menopoz Polikliniği başvurusu bulunan ve POY tanısıyla takip edilen toplam 170 hasta olmuştur. Bu hastaların 143'ünde (%84,1) POY etiyojisini açıklayacak bir neden saptanmadığı için idiyopatik POY olarak kabul edilmiştir. Geri kalan 27 (%15,9) hastada takip süresince over fonksiyonlarının geri kazanımını düşündüren herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. İdiyopatik POY grubunda ise toplam 11 hasta (%7,7) tanı sonrası geri dönüş kriterlerinden en az birini karşılamıştır. Bu hastaların da 4'ü (%2,8) tanı sonrası spontan gebelik, 2'si PHT almadığı dönemde spontan adet görmüş hastalar, 5'i ise izlem sürecinde tanıdan en az bir yıl sonra en az üç ay süreyle A3HP normalliği gösteren hastalardı. Geri dönüş bulguları gösteren 11 hastanın 5'inden çeşitli nedenlerle genetik analiz için örnek alınamadığından çalışma 6 hasta üzerinden yürütülmüştür (Şekil 1).

Çalışma için WES analizi yapılan altı hastanın dördü tanı sonrası spontan gebelik hikayesi olan, ikisi ise izlem sürecinde A3HP normalliği olan hastalardı. Tanı aldıkları yaşlar en az 17, en çok 31; geri dönüş süresi ise en az bir, en çok sekiz yıldır. Bu hastaların beşinde sekonder amenore mevcutken, sadece biri primer amenore şikayetiyle başvurmuştu. Primer amenore ile tanı alan hasta dışındaki beş hastanın hepsinde POY tanısı öncesi spontan gebelik hikayesi mevcuttu. Çalışmaya katılan altı hastanın ikisinde POY açısından aile öyküsü bulunmazken, iki hasta ailesinde en az bir kişinin kırk yaş altında menopoza girdiğini beyan etti. Bir hastada hipotiroidi, bir hastada tip 2 DM dışında hastalarda eşlik eden başlıca endokrinolojik patoloji yoktu. Üç hasta sigara kullanmazken; üç hastada dört, dokuz ve on sekiz paket yılı olmak üzere sigara öyküsü mevcuttu. Hastaların demografik bilgileri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Bütün hastalara poliklinik takiplerinde karyotip analizi ve FMR1 gen mutasyonu taraması yapılmış, hepsinin karyotipleri 46,XX ve FMR1 gen analizi normal sınırlarda CGG tekrar sayısı olarak raporlanmıştı.



Şekil 1. Çalışmaya alınan hastalar

Tablo 1. Hastaların demografik verileri

Yaş ortalaması	22 ± 5,4 (22 – 37)*
Tanı yaşı (ortalama)	25,6 ± 6,4 (17 – 31)
Geri dönüş süresi (ortalama)	3,3 yıl ± 2,5 (1 – 8)
Ailevi POY öyküsü	2/6
Gravida	2,3 ± 1,5(0 – 4)
Parite	2 ± 1,5 (0 – 3)
Abortus	0,16 ± 0,4 (0 – 1)
Küretaj	0,16 ± 0,4 (0 – 1)
Sigara öyküsü	3/6
Sistemik hastalık	3/6
Operasyon öyküsü	5/6
Tanı anında FSH	53,3 ± 47,2 (26,1 – 149,5)
Östradiol	10,0 ± 4,4 (5,0 – 16,5)
TSH	2,81 ± 0,61 (1,87 – 3,41)
AMH	0,04 ± 0,05 (0,01 – 0,14)
FMR1 Premutasyonu	0/6

*ortalama ± standart sapma (en küçük değer – en büyük değer)

WES sonuçları değerlendirilirken primer ve sekonder mutasyon tanımları kullanıldı. Veritabanlarında hastalıkla ilişkili olarak belirtilen genlerdeki primer; POY ile ilişkisi gösterilemeyen genlerdeki ise sekonder mutasyonlar olarak değerlendirildi. Primer mutasyonların tamamı, patojenitesi dikkate alınmadan bildirildi. Sekonder mutasyonlardan ise, yaygın izlenen hastalıklarla ilişkili genlerdeki patojenitesine bakılmaksızın tamamı, diğerlerinin ise veritabanlarında patojenik veya olası patojenik olarak kayıtlı olanları seçildi. Bu kriterlere göre değerlendirildiğinde, çalışmaya katılan altı hastanın ikisinde primer veya sekonder herhangi bir mutasyona rastlanmazken, ikisinde sadece sekonder ve kalan ikisinde hem primer hem sekonder mutasyonlar gösterildi. Bu mutasyonların tamamı heterozigottu. WES sonuçları toplu olarak Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. WES sonuçları

Olgular	Primer mutasyonlar	Sekonder mutasyonlar
Olgu 1: 35 yaş, tanı yaşı 31, tanıdan 2 yıl sonra spontan gebelik	Yok	Yok
Olgu 2: 29 yaş, tanı yaşı 18, tanıdan 8 yıl sonra spontan gebelik	Yok	Yok
Olgu 3: 37 yaş, tanı yaşı 30, tanıdan 4 yıl sonra spontan gebelik	Yok	CLCN1(het), RBBP8(het), ERCC2(het), SLCO1B1(het)
Olgu 4: 34 yaş, tanı yaşı 30, tanıdan 1 yıl sonra spontan gebelik	PSMC3IP(het), ZP1(het)	ACADM(het), VWF(het), IVD(het), MEFV(het), GCKR(het)
Olgu 5: 22 yaş, tanı yaşı 17 (primer amenore), tanıdan 3 yıl sonra A3HP normal	Yok	MEFV(het), CFTR(het)
Olgu 6: 34 yaş, tanı yaşı 28, tanıdan 2 yıl sonra A3HP normal	GNAS-AS1(het)	LCA5(het), ASL(het), PAH(het), MEFV(het), PTGIS(het), NLRC4(het)

het: heterozigot

Bu analize ek olarak 6 hasta kendi içinde ortak varyantlar açısından tarandı. Yapılan incelemede polimorfizm dışı ortak varyanta rastlanmadı.

Çalışmaya dahil edilen altı olgunun özellikleri ve saptanan mutasyonlar ayrı ayrı tablolarda belirtilmiştir (Tablo 3-14).

Tablo 3. Olgu 1 özellikleri

Yaş	35
Sistemik hastalık İlaç sigara	Hipotiroidi Levotiroksin Yok
Operasyon öyküsü	C/S*3
Obstetrik geçmiş	G4P3Y3A1 (POY tanısı öncesi 2 sağlıklı doğum, 1 abortus)
Muayene bulguları	SAT: 2 ay önce. USG'de uterus 61*28mm, endometriyum 2,6mm, sağ over 15*6mm, sol over 10*7mm, bilateral AF izlenmedi
Aile hikayesi	Anne ve abla menopoz yaşı 41
Menarş	11 yaş(spontan)
POY hikayesi	31 yaşında sekonder amenore şikayetiyle POY tanısı alan hasta PHT ile takip edilirken tanıdan 2 yıl sonra spontan gebelik→sağlıklı doğum. Halen emziriyor. Adetleri düzenli değil(3-9ayda bir)
POY tanı yaşı	31
Tanı-geri dönüş süresi	2 yıl
Karyotip	46,XX
FMR1 CGG tekrar sayısı	<45
Primer mutasyonlar	Yok
Sekonder mutasyonlar	Yok

Tablo 4. Olgu 2 özellikleri

Yaş	29
Sistemik hastalık	Yok
İlaç	Yok
Sigara	9 paket yılı
Operasyon öyküsü	C/S*3
Obstetrik geçmiş	G3P3Y3 (POY tanısı öncesi 2 sağlıklı doğum)
Muayene bulguları	Adetin 7. günü yapılan USG'de uterus 65*33mm, endometriyum 4,3mm; sağ over 24*21 mm, 2AF(+); sol over 22*9mm, 1AF(+)
Aile hikayesi	Halaların menopoz yaşı 35
Menarş	13 yaş (spontan)
POY hikayesi	18 yaşında POY tanısı alan hasta 7 yıl PHT(+) tanıdan 8 yıl sonra spontan gebelik→sağlıklı doğum. 2 yıldır düzenli adet görüyor
POY tanı yaşı	18
Tanı-geri dönüş süresi	8 yıl
Karyotip	46,XX
FMR1 CGG tekrar sayısı	<45
Primer mutasyonlar	Yok
Sekonder mutasyonlar	Yok

Tablo 5. Olgu 3 özellikleri

Yaş	37
Sistemik hastalık	DM(yeni tanı)
İlaç	Metformin
Sigara	Yok
Operasyon öyküsü	Yok
Obstetrik geçmiş	G3P3Y3 (POY tanısı öncesi 2 sağlıklı doğum)
Muayene bulguları	SAT: 1,5 yıl önce. USG'de uterus 44*32mm, endometriyum 4,8mm, kavitede RIA(+); sağ over 16*11mm, 1 AF(+); sol over 17*12mm, 1 AF(+)
Aile hikayesi	POY hikayesi yok Anne menopoz yaşı 49
Menarş	12 yaş (spontan)
POY hikayesi	30 yaşında POY tanısı alan hasta PHT ile takipte. Tanıdan 4 yıl sonra spontan gebelik→sağlıklı doğum. 1,5 yıldır spontan adet görmüyor, emzirmeyi 7 ay önce bırakmış.
POY tanı yaşı	30
Tanı-geri dönüş süresi	4 yıl
Karyotip	46,XX
FMR1 CGG tekrar sayısı	<45
Primer mutasyonlar	Yok
Sekonder mutasyonlar	CLCN1, RBBP8, ERCC2, SLCO1B1 (tamamı heterozigot)

Tablo 6. Olgu 3 Sekonder Mutasyonlar

Gen	Sitogenetik Lokasyon	Mutasyon	Aminoasit Değişimi	Zigosite	Etki	Clinvar	Omim (Protein – Hastalık)
CLCN1	7q34	220C>T	Gln→*	Het	Anlamsız (nonsense)	patojenik	Klor kanalı 1 - konjenital myotoni
RBBP8	18q11.2	1009A>G	Lys→Glu	Het	Anlamı değiştiren (missense)	Önemi belirsiz/ patojenik	Retinoblastom bağlayıcı protein 8 - Jawad Sendromu, pankreatik karsinom
ERCC2	19q13.32	2047C>T	Arg→Trp	Het	Anlamı değiştiren (missense)	Patojenik/ olası patojenik	DNA tamir defekti – serebrokulofazy oskeletal sendrom, fotosensitivite, xeroderma pigmentozum
SLCO1B1	12p12.1	1738C>T	Arg→*	Het	Anlamsız (nonsense)	Patojenik/ önemi belirsiz	Anyon taşıyıcı protein ailesi - hiperbilirubinemi

het: heterozigot anlamsız mutasyon(nonsense): nükleotid değişimi sonrası stop kodon oluşması
 anlamı değiştiren(missense): nükleotid değişimi sonrası başka aminoasit kodlayan kodon oluşması
aminoasit kısaltma listesi ek-3'te verilmiştir.

Tablo 7. Olgu 4 özellikleri

Yaş	34
Sistemik hastalık	Astım
İlaç	Budesonid inhaler
Sigara	Yok
Operasyon öyküsü	L/T Bağırsaktan yabancı cisim çıkarılması(1 yaş), L/T bridektomi(24 yaş), C/S*3
Obstetrik geçmiş	G3P3Y3 (tanı öncesi 1 sağlıklı doğum)
Muayene bulguları	Adetin 12. günü yapılan USG'de uterus 46*78mm, end:4,1mm; sağ over16*11mm, 1 AF; sol over 34*17mm sol overde 23*21mm folikül
Aile hikayesi	Anneanne menopoz yaşı 41
Menarş	15 yaş (spontan)
POY hikayesi	30 yaşta POY tanısı alan hasta. PHT almamış. Tanıdan 1 yıl sonra spontan gebelik→sağlıklı doğum. Emzirirken tekrar spontan gebelik→sağlıklı doğum. 3 aydır emzirmiyor, adetleri spontan ancak düzenli değil(30-60 günde bir)
POY tanı yaşı	30
Tanı-geri dönüş süresi	1 yıl
Karyotip	46,XX
FMR1 CGG tekrar sayısı	<45
Primer mutasyonlar	PSMC3IP, ZP1 (tamamı heterozigot)
Sekonder mutasyonlar	ACADM, VWF, IVD, MEFV, GCKR (tamamı heterozigot)

Tablo 8. Olgu 4 Primer Mutasyonlar

Gen	Sitogenetik Lokasyon	Mutasyon	Aminoasit Değişimi	Zigosite	Etki	Clinvar	Omim (Protein – Hastalık)
PSMC3IP	17q21.2	189G>T	Lys→Asn	Het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	PSMC3 etkileşimli protein – over disgenезisi
ZP1	11q12.2	1150C>A	Leu→Met	Het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	Zona pellucida glikoprotein 1 - oosit maturasyon defekti

Tablo 9. Olgu 4 Sekonder Mutasyonlar

Gen	Sitogenetik Lokasyon	Mutasyon	Aminoasit Değişimi	Zigosite	Etki	Clinvar	Omim (Protein – Hastalık)
ACADM	1p31.1	833C>T	Ser→Leu	het	Anlamı değiştiren (missense)	Patojenik/olası patojenik	Açıl coA dehidrogenaz, orta zincir defekti
VWF	12p13.31	2561G>A	Arg→Gln	het	Anlamı değiştiren (missense)	Patojenik/olası patojenik	Von Willebrand faktör – VW hastalığı
IVD	15q15.1	932C>T	Ala→Val	het	Anlamı değiştiren (missense)	Patojenik/olası patojenik	İzovaleril coA dehidrogenaz – izovalerik asidemi
MEFV	16p13.3	688G>A	Glu→Lys	het	Anlamı değiştiren (missense)	Önemi belirsiz	Pyrin - ailevi akdeniz ateşi
MEFV	16p13.3	1223G>A	Arg→Gln	het	Anlamı değiştiren (missense)	Önemi belirsiz	Pyrin – ailevi akdeniz ateşi
MEFV	16p13.3	1105C>T	Pro→Ser	het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	Pyrin – ailevi akdeniz ateşi
GCKR	2p23.3	1135dupA	Thr379fs	het	Çerçeve kayması (frameshift)	Önemi belirsiz	Glukokinaz regultuar protein – açlık plazma glukoz seviyesi düzenleme kusuru

Çerçeve kayması(frameshift mutation): baz eklenmesi ya da çıkması sonucunda mutasyonun olduğu yerden itibaren trinükleotidlerin, dolayısıyla kodonların okunma şeklinin değişmesi

Tablo 10. Olgu 5 Özellikleri

Yaş	22
Sistemik hastalık İlaç Sigara	Yok PHT 18 paket yılı
Operasyon öyküsü	Sağ el bilek kırık operasyonu
Obstetrik geçmiş	Virgo olduğunu beyan etti
Muayene bulguları	Adetin 7.günü yapılan USG'de uterus 60*25mm, endometriyum 4,8mm; sağ over 19*13mm, 2AF(+); sol over 24*12mm, 3AF(+)
Aile hikayesi	Anne menopoz yaşı 37
Menarş	Spontan adeti yok
POY hikayesi	17 yaşta primer amenoreyle tanı almış hasta. 5 yıldır PHT altında takip ediliyor. Tanıdan 3 yıl sonra FSH:9,05 LH:0,48 1 yıl sonra tekrar FSH: 4,46 LH: 0,523 AMH düzeyinde değişiklik yok (0,01)
POY tanı yaşı	17
Tanı – geri dönüş süresi	3 yıl
Karyotip	46,XX
FMR1 CGG tekrar sayısı	<45
Primer mutasyonlar	Yok
Sekonder mutasyonlar	MEFV, CFTR (tamamı heterozigot)

Tablo 11. Olgu 5 Sekonder Mutasyonlar

Gen	Sitogenetik Lokasyon	Mutasyon	Aminoasit Değişimi	Zigosite	Etki	Clinvar	Omim (Protein – Hastalık)
MEFV	16p13.3	442G>C	Glu→Gln	het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	Pyrin – ailevi akdeniz ateşi
CFTR	7q31.2	249C>G	Phe→Leu	het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	Kistik fibrozis iletkenlik düzenleyici – kistik fibrozis

Tablo 12. Olgu 6 Özellikleri

Yaş	34
Sistemik hastalık	Migren
İlaç	PHT
Sigara	4 paket yılı
Operasyon öyküsü	Tonsillektomi
Obstetrik geçmiş	G1P0A0C1 (tanı öncesi elektif küretajla sonlanmış 1 spontan gebelik)
Muayene bulguları	Adetin 10. günü yapılan USG'de uterus 57*33mm, endometriyum 3,9mm; sağ over 19*10mm; sol over 14*8mm; bilateral AF izlenmedi
Aile hikayesi	Ailede POY hikayesi yok Anne menopoz yaşı 45
Menarş	14 yaş (spontan)
POY hikayesi	6 yıl önce sekonder amenoreyle POY tanısı almış hasta. PHT ile takip ediliyor. Tanıdan 2 yıl sonra FSH:6,22 LH: 8,08 AMH: 0,01→0,028
POY tanı yaşı	28
Tanı – geri dönüş süresi	2 yıl
Karyotip	46,XX
FMR1 CGG tekrar sayısı	<45
Primer mutasyonlar	GNAS-AS1 (het)
Sekonder mutasyonlar	LCA5, ASL, PAH, MEFV, PTGIS, NLRC4 (tamamı het)

Tablo 13. Olgu 6 Primer Mutasyonlar

Gen	Sitogenetik Lokasyon	Mutasyon	Aminoasit Değişimi	Zigosite	Etki	Clinvar	Omim
GNAS-AS1	20q13.32	819+1664G>A		Het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	Psödöhipo paratiroidi zm

* Tanımlanan mutasyon NR_002785.2 : n.819+1664G>A olarak raporlanmıştır.

Tablo 14. Olgu 6 Sekonder Mutasyonlar

Gen	Sitogenetik Lokasyon	Mutasyon	Aminoasit Değişimi	Zigosite	Etki	Clinvar	Omim (Protein – Hastalık)
LCA5	6q14.1	1062_1068 delCGAAAAC	Tyr354fs	het	Çerçeve kayması (frameshift)	patojenik	Lebersilin – leber konjenital amorozis
ASL	7q11.21	35G>A	Arg→Gln	het	Anlamı değiştiren (missense)	patojenik	Arjininosüksinat liyaz – arjininosüksinik asidüri
PAH	12q23.2	1208C>T	Ala→Val	het	Anlamı değiştiren (missense)	patojenik	Fenilalanin hidroksilaz - fenilketonüri
MEFV	16p13.3	2040G>C	Met→Ile	het	Anlamı değiştiren (missense)	patojenik	Pyrin – ailevi akdeniz ateşi
PTGIS	20q13.13	824G>A	Arg→Gln	het	Anlamı değiştiren (missense)	patojenik	Prostoglandin I2 sentaz – esansiyel hipertansiyon
NLRC4	2p22.3	1189G>T	Ala→Ser	het	Anlamı değiştiren (missense)	Tanımlı değil	Ailesel soğuk otoinflamasyon sendromu

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda idiyopatik POY tanılı hastalarda geri dönüş oranı %7,7 ve spontan gebelik oranı ise %2,8/olgu bulunmuştur. Literatürde bu konuyla ilgili çalışmalar incelendiğinde, 2011'de Bidet ve arkadaşlarının 358 hasta ile yaptıkları çalışmada %24, 2016'da Bachelot ve arkadaşlarının 507 hasta ile yaptıkları çalışmada ise %23 oranında geri dönüş bildirildiği görülmüştür[3,50]. Ayrıca bu konudaki derlemelerde de verilen oranlar benzerdir[51,52]. Bu çalışmalardaki spontan gebelik oranları Bidet ve ark. çalışmasında %4,2, Bachelot ve ark. çalışmasında %3,5 olarak bildirilmiştir. Bizim çalışmamız mevcut literatür ile kıyaslandığında benzer gebelik oranları olmasına rağmen belirgin olarak daha düşük geri dönüş oranları saptanmıştır; bunun nedeni olarak çalışmalar arasında yöntemsel farklılıklar olduğu düşünülmüştür. Literatürdeki çalışmalarda geri dönüş kriterleri kapsamında ultrasonografi bulguları ve ilk bir yıl içindeki serum FSH düzeyleri de dikkate alınmıştır. POY tanısı alan hastalarda serum hormon seviyelerinde dalgalanmaların olabileceği bilinmektedir[6]. Ayrıca USG bulguları uygulayıcılar arası farklılık gösterebilmektedir. Bu nedenlerle çalışmamızda geri dönüş kriterlerinin objektifliğini sağlamak için USG bulguları ve tanı sonrası ilk bir yıl içindeki hormon düzeyleri dikkate alınmamıştır.

POY etiolojisinde genetik nedenler önem arz etmektedir. Bu nedenle POY tanılı hastaların klinik değerlendirmesinde karyotip analizi ve FMR-1 geni CGG tekrar sayısı değerlendirilmektedir. Bizim hastalarımızda da yapılan tetkiklerde tüm hastalarımız için karyotip 46,XX ve FMR-1 CGG tekrar sayısı normal aralıkta (<45) saptanmıştır. Çalışma grubumuz over fonksiyonları geri dönen olgulardan oluştuğu için CGG tekrar sayılarının normal aralıkta olmasının geri dönüş üzerinde etkili olabileceği düşünülmüştür.

WES analizlerinde çalışmaya katılan altı hastanın ikisinde, literatürdeki POY ilişkili genler üzerinde toplam üç adet primer mutasyon saptanmıştır. Fakat bu mutasyonlar arasında güncel veritabanlarında patojenik olarak kaydedilmiş bir mutasyon bulunmamaktadır. Saptanan primer mutasyonlar POY gelişiminden sorumlu tutulabilecek aday mutasyonlar olarak düşünülebilir. Ancak bu hastalarda

geri dönüş bulguları da izlendiğinden bu mutasyonların patojenitesi hakkında yorum yapmak için ileri çalışmalar gerekmektedir.

WES analizleri sonucunda saptanan primer mutasyonlar ayrı ayrı incelenecek olursa, bir hastada literatürdeki POY ilişkili genlerden ZP1 ve PSMC3IP genlerinde mutasyon bulunmuştur. Bulunan bu mutasyonlar güncel veritabanlarında kayıtlı olmayan anlamı değiştiren (missense) nokta mutasyonlarıdır ve patojenik potansiyelleri belli değildir. Bunlardan zona pellucida glikoprotein 1 olarak bilinen ZP1, insanda zona pellucidayı oluşturan dört glikoproteinden biridir. ZP1 gen lokasyonu sitogenetik olarak 11. kromozomun uzun kolundadır ve 638 aminoasitlik ZP1 proteinini kodlar[53]. Hastada tanımlanan NM_207341.3:c.1150C>A mutasyonu anlamı değiştiren nokta mutasyonudur ve bunun sonucunda 384. aminoasit olan lösin, metiyonine değişmiştir. Literatürde ZP1 genindeki değişimler oosit maturasyon kusuruyla ilişkilendirilmekle beraber bu olguda ortaya çıkan mutasyonu patojenik olarak değerlendirmek bu verilerle mümkün görünmemektedir[53].

PSMC3IP geni 17. kromozomun uzun kolunda bulunur ve mayoz bölünmede birden çok işlevi olan nükleer, dokuya özgü bir protein kodlar. Bu gendeki mutasyonlar daha önce çalışmalarla gösterilmiş iyi bilinen POY sebeplerinden biridir[54,55]. Çalışmada bir hastada heterozigot saptanan NM_016556.4:c.189G>T mutasyonu sonucunda genin kodladığı proteinin 63. aminoasiti lizin yerine asparajin olmuştur. Her ne kadar bu gendeki mutasyonlar over disgenezisi ile ilişkilendirilse de, hastada ortaya çıkan tanımlı olmayan yeni bir mutasyon olduğu için patojenik potansiyeli bilinmemektedir.

GNAS kompleks lokus 20. kromozomun uzun kolunda bulunan ve endokrin patolojilerin genetik nedenleriyle ilişkilendirilen bir gen bölgesidir. Çalışmada bir hastada genin kendisinde değil ama, işlevini etkileyebileceği düşünülen antisens transkript 1 isimli, mRNA'sının tamamlayıcı RNA'sında mutasyon saptanmıştır. GNAS-AS1 Omim veritabanında psödöhipoparatiroidizm ile ilişkilendirilmiştir[56]. Hastada heterozigot saptanan NR_002785.2:n.819+1664G>A mutasyonu ise daha önceden veritabanlarında tanımlı değildir ve patojenik potansiyeli bilinmemektedir.

Çalışmaya katılan hastaların tüm ekzon dizilemeleri ortak nokta açısından analiz edildiğinde, toplumda görülen polimorfizmler dışında ortak olan varyantlara rastlanmamıştır. Bir diğer önemli nokta da, tanımlanan bu mutasyonların tamamının hastalarda heterozigot oluşu ve hiçbirinin sitogenetik olarak X kromozomunda bulunmayışıdır.

WES sonuçları sekonder mutasyonlar açısından incelendiğinde dört hastada POY ile ilişkisi gösterilemeyen ve farklı hastalıklar için patojenik olarak değerlendirilebilecek genlerde heterozigot mutasyonlara rastlanmıştır. Bu hastaların üçünde MEFV geninde Clinvar veritabanında tanımlı olan ve olmayan farklı varyasyonlar mevcuttur. MEFV geni pyrin proteinini kodlayan bir gendir. Bu gendeki mutasyonlar Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) ile ilişkili bulunmuştur. FMF otozomal resesif geçişli bir hastalık olup Türkiye’de görülme sıklığı her bin kişide bir ile üç iken taşıyıcılık oranı ise 1/5 olarak bildirilmiştir[57]. Bizim altı hastamız arasında klinik olarak FMF tanısı koyulan veya homozigot mutasyon taşıyan olgu bulunmamaktadır. Fakat hastalarımızın üçünde (%50) FMF ile ilişkili gende heterozigot mutasyon saptanmış olup hastalarımız arasında FMF taşıyıcılığı oranı toplum ortalamasının üzerinde görülmektedir. Bu mutasyonların POY gelişimine olası etkilerinin anlaşılması için bu alanda daha geniş hasta grupları üzerinde yapılacak ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

POY etiolojisinde çevresel etkenler arasında sigara önemli bir faktördür. Sigara kullanımının direkt POY yapıcı etkisi kanıtlanamasa da, erken menopoz yaşıyla ilişkili bulunmuştur[40]. Çalışmamıza katılan altı hastanın üçünde dört, dokuz ve on sekiz paket yılı olmak üzere sigara kullanım öyküsü vardır. Çalışmaya katılan sigara kullanmayan hastaların ikisine 30, birine 31 yaşında tanı koyulurken; dört paket yılı sigara öyküsü olana 28, dokuz paket yılı sigara öyküsü olana 18 ve on sekiz paket yılı sigara öyküsü olan hastaya ise 17 yaşında tanı koyulduğu görülür. Bunun yanısıra 18 paket yılı sigara öyküsü olup 17 yaşında tanı koyulan olgu, diğerlerinden farklı olarak primer amenore şikayetiyle başvurmuştur ve WES analizinde hiç bir patojenik mutasyon saptanmamıştır. Çalışmamızda literatüre benzer şekilde sigara içenlerin POY saptanma yaşlarının daha küçük olduğu görülmüştür. Ancak çalışma grubumuz

altı hastadan oluştuğu için, tanı yaşı ve sigara ilişkisini istatistiksel yöntemlerle değerlendirmek mümkün olmayacaktır.

Erken over yetersizlikleri ile diğer endokrinolojik patolojilerin arasında bir neden-sonuç ilişkisi kurulamasa da beraber görülme sıklığının arttığı bilinmektedir[6]. Çalışmaya dahil edilen hastalar bu açıdan incelendiklerinde bir hastanın hipotiroidi, bir hastanın ise diyabetes mellitus (DM) nedeniyle takip edilmekte olduğu görülür. Bu endokrinolojik patolojiler direkt olarak POY sebebi olmasalar da kontrol altında olmayan kan şekeri ve normal aralıkta ölçülmeyen serum serbest tiroksin düzeylerinin ovulasyon kusurları ile ilişkili olduğu söylenebilir[4,6].

Başlıca endokrinolojik patoloji eşlik eden olguları bu açıdan inceleyecek olursak, hipotiroidi nedeniyle takipli olgumuz (Olgu 1) bu tanıyı POY gelişmeden yedi yıl önce almıştır. Anti-TPO pozitifliği bulunan hasta levotiroksin ile iç hastalıkları tarafından takip edilmektedir ve düzenli kontrollerinde TFT (tiroid fonksiyon testleri) normal aralıkta seyretmektedir. Bu olgunun WES analizinde ise primer veya sekonder hiçbir mutasyona rastlanmamıştır. POY tanısı koyulduğu ve tanıdan iki yıl sonra PHT ile spontan gebe kaldığı sırada da TFT normal izlenen hastanın over fonksiyonlarındaki bu değişimi tiroid fonksiyonlarıyla ilişkilendirmek mümkün gözükmemektedir.

Çalışmadaki DM tanılı hasta (Olgu 3) ise şu an 37 yaşında olup DM tanısını üç ay önce almıştır. Yedi yıldır POY tanısı ile takipte olan ve takibinin dördüncü yılında spontan gebelik sonrası sağlıklı doğum öyküsü de olan hastanın gebeliklerinde GDM (gestasyonel diyabetes mellitus) gelişmemiştir. Bu nedenle hastanın over fonksiyonlarındaki kaybın, tanısı yeni koyulmuş olan DM hastalığı ile ilişkili olduğu düşünülmemiştir.

WES analizi sonucunda sayısal olarak hastalık ilişkili iki, hastalık ilişkili olduğu gösterilemeyen yedi varyant ile en çok mutasyon saptanan hastamızın (olgu 4) POY tanısı sonrası iki spontan gebeliği olması dikkat çekicidir. Ancak bu hastamızın POY tanısı sonrası ikinci gebeliği emzirirken gerçekleşmiştir. Bir vaka sunumunda da POY tanılı bir hastanın oosit donasyonu ile gebeliği sonrası emzirirken spontan gebe

kaldığı bildirilmiştir[58]. POY sonrası sık görülmeyen bir durum olan birden fazla spontan gebeliğin bu hastada görülmesinin, emzirmeyle ilişkili olduğu düşünülebilir. Ancak bu konuda yeterli veri bulunmamaktadır.



6. SONUÇ

Çalışmaya katılan primer over yetmezliğinden geri dönüş yaşamış hastaların hiçbirinde hastalık ilişkili olup patojenik olduğu gösterilen hiçbir mutasyona rastlanmamıştır. Patojenik olarak raporlanan diğer mutasyonların ise günümüz verileriyle POY ile ilişkisi bulunamamıştır. Literatürde, primer over yetmezliğinin genetik etiolojisini ortaya koymayı amaçlayan çalışmalar mevcut iken, hastalıktan geri dönüşlerin genetik sebeplerini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmayla, ileri araştırmalar gereken bu konu ile ilgili literatüre katkı sağlandığı düşünülmektedir.



7. KAYNAKLAR

1. Perry JR, Corre T, Esko T, Chasman DI, Fischer K, Franceschini N, et al. A genome-wide association study of early menopause and the combined impact of identified variants. *Hum Mol Genet.* 2013;22(7):1465-72.
2. Shelling AN. Premature ovarian failure. *Reproduction.* 2010;140(5):633–641.
3. Bidet M, Bachelot A, Bissauge E, Golmard JL, Gricourt S, Dulon J, Coussieu C, Badachi Y, Touraine P. Resumption of ovarian function and pregnancies in 358 patients with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab,* 2011, 96(12):3864-3872.
4. Amenorrhea. In: Hoffman BL, Schorge JO, Halvorson LM, Hamid CA, Corton MM, Schaffer JI. eds. *Williams Gynecology, 4e.* McGraw Hill; 2020. p.371-388.
5. Chapman C, Cree L, Shelling AN. The genetics of premature ovarian failure: current perspectives. *Int J Womens Health.* 2015;7:799-810.
6. European Society for Human Reproduction and Embryology (ESHRE) Guideline Group on POI, Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod.* 2016;31(5):926-37.
7. Qin Y, Sun M, You L, Wei D, Sun J, Liang X, et al. ESR1, HK3 and BRSK1 gene variants are associated with both age at natural menopause and premature ovarian failure. *Orphanet J Rare Dis.* 2012;7:5.
8. Pu D, Xing Y, Gao Y, Gu L, Wu J. Gene variation and premature ovarian failure: a meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014;182:226–237.
9. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature.* 2004;431(7011):931-945.
10. Bagirova G. Fanconi anemili olgularda ilişkili genlerin yeni nesil dizileme teknolojisi ile taranması ve mutasyonların saptanması [Uzmanlık Tezi]. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı; 2016.
11. Rebar RW, Erickson GF, Yen SSC. Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics. *Fertil Steril* 1982; 37(1): 35-41.
12. Tarin JJ. Aetiology of age-associated aneuploidy: a mechanism based on the 'free radical theory of ageing'. *Hum Reprod* 1995; 10(6): 1563-5.
13. Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod* 1997; 12(5): 1047-55.
14. Bennett CE, Conway GS, Macpherson JN, Jacobs PA, Murray A. Intermediate sized CGG repeats are not a common cause of idiopathic premature ovarian failure. *Hum Reprod.* 2010;25(5):1335-8.
15. Heller CG, Heller EJ. Gonadotropic hormone: urine assays of normally cycling, menopausal, castrated, and estrin treated human females. *J Clin Invest.* 1939;18(2):171-8.

16. American College of Obstetricians and Gynecologists' Committee on Gynecologic Practice. Committee Opinion No. 698: Hormone Therapy in Primary Ovarian Insufficiency. *Obstet Gynecol.* 2017 May;129(5):e134-e141.
17. Welt CK. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;68: 499-509.
18. Schmidt PJ, Luff JA, Haq NA, Vanderhoof VH, Koziol DE, Calis KA, et al. Depression in women with spontaneous 46, XX primary ovarian insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96: E278-287.
19. Jacobsen BK, Knutsen SF, Fraser GE. Age at natural menopause and total mortality and mortality from ischemic heart disease: the Adventist Health Study. *J Clin Epidemiol.* 1999;52(4):303-307.
20. Nelson LM. Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med.* 2009;360(6):606-614.
21. Coulam CB, Adamson SC, Annegers JF. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1986;67: 604-606.
22. 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):91-93
23. Conway GS. Premature ovarian failure. *British Medical Bulletin* 2000;56: 643-649.
24. Davis SR, Jane F. Sex and perimenopause. *Aust Fam Physician* 2011;40: 274-278.
25. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril* 1990;53: 804-810.
26. La Marca A, Brozzetti A, Sighinolfi G, Marzotti S, Volpe A, Falorni A. Primary ovarian insufficiency: autoimmune causes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010;22: 277-282.
27. Knauff EA, Eijkemans MJ, Lambalk CB, ten Kate-Booij MJ, Hoek A, Beerendonk CC, et al. Dutch Premature Ovarian Failure C. Anti-Mullerian hormone, inhibin B, and antral follicle count in young women with ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94: 786-792.
28. La Marca A, Pati M, Orvieto R, Stabile G, Carducci Arsenio A, Volpe A. Serum anti-mullerian hormone levels in women with secondary amenorrhea. *Fertil Steril* 2006;85: 1547-1549.
29. Silva CA, Yamakami LY, Aikawa NE, Araujo DB, Carvalho JF, Bonfa E. Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev* 2014;13: 427-430.
30. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Hum Reprod Update* 2005;11: 391-410.
31. Kokcu A. Premature ovarian failure from current perspective. *Gynecol Endocrinol* 2010;26: 555-562.
32. Rossetti R, Ferrari I, Bonomi M, Persani L. Genetics of primary ovarian insufficiency. *Clin Genet.* 2017;91(2):183-98.
33. Siddle N, Sarrel P, Whitehead M. The effect of hysterectomy on the age at ovarian failure: identification of a subgroup of women with premature loss of ovarian function and literature review. *Fertil Steril* 1987;47: 94-100

34. Visvanathan N, Wyshak G. Tubal ligation, menstrual changes, and menopausal symptoms. *J Womens Health Gend Based Med* 2000;9: 521-527.
35. Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause. *Hum Reprod* 2011;26: 3000-3007.
36. Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97: 3146-3154.
37. Somigliana E, Berlanda N, Benaglia L, Vigano P, Vercellini P, Fedele L. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimullerian hormone level modifications. *Fertil Steril* 2012;98: 1531-1538.
38. Gracia CR, Sammel MD, Freeman E, Prewitt M, Carlson C, Ray A, et al. Impact of cancer therapies on ovarian reserve. *Fertil Steril* 2012;97: 134-140.
39. Nielsen SN, Andersen AN, Schmidt KT, Rechnitzer C, Schmiegelow K, Bentzen JG, et al. A 10-year follow up of reproductive function in women treated for childhood cancer. *Reprod Biomed Online* 2013;27: 192-200.
40. Hayatbakhsh MR, Clavarino A, Williams GM, Sina M, Najman JM. Cigarette smoking and age of menopause: a large prospective study. *Maturitas*. 2012;72(4):346-52.
41. Geckinli BB, Toksoy G, Sayar C, Soylemez MA, Yesil G, Aydın H, et al. Prevalence of X-aneuploidies, X-structural abnormalities and 46,XY sex reversal in Turkish women with primary amenorrhea or premature ovarian insufficiency. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2014;182:211-5.
42. Jiao X, Qin C, Li J, Qin Y, Gao X, Zhang B, et al. Cytogenetic analysis of 531 Chinese women with premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2012;27: 2201-2207.
43. Kalantari H, Madani T, Zari Moradi S, Mansouri Z, Almadani N, Gourabi H, et al. Cytogenetic analysis of 179 Iranian women with premature ovarian failure. *Gynecol Endocrinol* 2013;29: 588-591.
44. Hunter JE, Berry-Kravis E, Hipp H, et al. FMR1 Disorders. 1998 Jun 16 [Updated 2019 Nov 21]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1384/>
45. França MM, Mendonca BB. Genetics of Primary Ovarian Insufficiency in the Next-Generation Sequencing Era. *J Endocr Soc*. 2019;4(2):bvz037.
46. 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.
47. Dogan M, Eroz R, Yuce H, Ozmerdivenli R. The known about next-generation sequencing (NGS). *Duzce Med J*. 2017;19(1),27-30.
48. Hulick PJ. Next-generation DNA sequencing (NGS): Principles and clinical applications. In: Post TW, ed. *UpToDate*. UpToDate; 2022. [Erişim Tarihi 1 Temmuz 2022]. Erişim adresi: <https://www.uptodate.com/contents/next-generation-dna-sequencing-ngs-principles-and-clinical-applications>

49. 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.
50. Bachelot A, Nicolas C, Bidet M, Dulon J, Leban M, Golmard JL, et al. Long-term outcome of ovarian function in women with intermittent premature ovarian insufficiency. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2017;86(2):223-228.
51. Kuang X, Tang Y, Xu H, Ji M, Lai D. The Evaluation of Ovarian Function Recovery Following Treatment of Primary Ovarian Insufficiency: A Systematic Review. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:855992.
52. Kasteren Y, Schoemaker J. Premature Ovarian Failure: A Systematic Review on Therapeutic Interventions to Restore Ovarian Function and Achieve Pregnancy. *Hum Reprod Update (1999)* 5:483–92.
53. Huang HL, Lv C, Zhao YC, Li W, He XM, Li P, et al. Mutant ZP1 in familial infertility. *N Engl J Med.* 2014;370(13):1220-6.
54. Al-Agha AE, Ahmed IA, Nuebel E, Moriwaki M, Moore B, Peacock KA, et al. Primary Ovarian Insufficiency and Azoospermia in Carriers of a Homozygous PSMC3IP Stop Gain Mutation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(2):555-563.
55. Zangen D, Kaufman Y, Zeligson S, Perlberg S, Fridman H, Kanaan M, et al. XX ovarian dysgenesis is caused by a PSMC3IP/HOP2 mutation that abolishes coactivation of estrogen-driven transcription. *Am J Hum Genet.* 2011;89(4):572-9.
56. Bastepe M, Fröhlich LF, Linglart A, Abu-Zahra HS, Tojo K, Ward LM, et al. Deletion of the NESP55 differentially methylated region causes loss of maternal GNAS imprints and pseudohypoparathyroidism type 1b. *Nat Genet.* 2005;37(1):25-7.
57. Akyol Onder E. N. , Ertan P. Ailesel Akdeniz Ateşi. *CBU-SBED: Celal Bayar University-Health Sciences Institute Journal.* 2020; 7(3): 413-417.
58. Ayers CD, Carlson KS. Spontaneous Pregnancy in the Setting of Primary Ovarian Insufficiency and Breastfeeding: Does Immunosuppression Play a Role?. *Am J Case Rep.* 2020;21:e926980-1-5.