T.C.

MALTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

RATLARDA SİKLOFOSFAMİD KAYNAKLI ERKEN OVARYEN YETMEZLİK MODELİNDE ANJİOTENSİN RESEPTÖR BLOKERLERİ KULLANIMININ OVERE ETKİSİ

Dr. Ezgi DOĞAN TEKBAŞ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR.ÜYESİ ALİ GÜRSOY

İSTANBUL

2022

T.C.

MALTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

RATLARDA SİKLOFOSFAMİD KAYNAKLI ERKEN OVARYEN YETMEZLİK MODELİNDE ANJİOTENSİN RESEPTÖR BLOKERLERİ KULLANIMININ OVERE ETKİSİ

Dr. Ezgi DOĞAN TEKBAŞ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

DR. ÖĞR.ÜYESİ ALİ GÜRSOY

İSTANBUL

2022

ÖNSÖZ

Yıllar boyunca ciddi bir emek ve özveri ile kat ettiğim yolu, hazırladığım uzmanlık tezim ile taçlandırmanın heyecanını ve gururunu yaşıyorum.

Öncellikle tez danışmanım olan Dr. Öğretim Üyesi Ali GÜRSOY' a, uzmanlık eğitimim süresince bana her zaman yol gösterdiği, sonsuz desteği, motivasyonu ve sabrı için çok teşekkür ediyorum. Bana hocalığın yanı sıra, abilik ve arkadaşlık yaparak zorlu asistanlık sürecini daha güzel geçirmemi sağladığı ve bana olan güvenini benden esirgemediği için minnettarım.

Tüm mesleki eğitim hayatımda engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, kullandığı her kelimenin, gösterdiği ve aktardığı her bilginin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım, yüreklendirici sözleriyle bana mesleki yolda yürüme şevki kazandıran ve beni gelecekte söz sahibi yapacak bilgilerle donattığı için değerli hocam Prof. Dr. Erdin İLTER' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesindeki uzmanlık sürecim boyunca tüm katkılarından dolayı değerli hocam ve Anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Ümit ÖZEKİCİ'ye, ayrıca birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissettiğim ve çok şey öğrendiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Berna HALİLOĞLU PEKER ve Prof. Dr. Aygen ÇELİK'e şükranlarımı sunmak isterim.

Asistanlık eğitim süresince birlikte çalıştığım tüm ekip arkadaşlarıma sonsuz destekleri, dostlukları ve enerjileri için teşekkür ederken, özellikle Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisinde sorumlu ebe olan Gonca CAN, birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum

Fatma Nur ÖZDAŞ ve Esra Nur TARAKÇI' ya zorlu tez süreci dahil olmak üzere her daim yanımda oldukları için büyük teşekkürü borç bilirim.

Tanıştığımız ilk günden beri varlıklarından dolayı kendimi çok şanslı hissettiğim, hayatımın her alanında olduğu gibi, tez çalışmamı hazırlarken de her aşamada bana yardımcı olan ikinci ailem Hatice ÇITIŞLI SOYTÜRK ve Derya AĞAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitimim boyunca her zaman yanımda olan, desteğini hiç esirgemeyen, tüm zorlukları benimle göğüsleyen, aldığım kararları her zaman destekleyen ve beni cesaretlendiren yol arkadaşım, değerli eşim Nurhak TEKBAŞ' a çok teşekkür ederim.

Yaşamım ve eğitim sürecim boyunca elimi asla bırakmayan, her türlü fedakarlığı gösteren, sevgiyle beni bu günlere getiren ve haklarını asla ödeyemeyeceğim annem Figen DOĞAN, babam İbrahim DOĞAN ve ilk arkadaşım ve en değerlim olan abim Çağdaş Ozan DOĞAN' a sonsuz teşekkürler.

Dr. Ezgi DOĞAN TEKBAŞ

İstanbul, 2022

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER……. İ

ŞEKİLLER LİSTESİ……..…… İİİ

TABLOLAR LİSTESİ…….……..... İV

KISALTMALAR LİSTESİ…… V

ÖZET……..…….. Vİ

1. GİRİŞ VE AMAÇ…….. İİİ

2. GENEL BİLGİLER…….…… 22

2.1. Overin Morfolojisi…….. 22

2.2. Overin Beslenmesi……..…… 23

2.3. Overin Embriyolojisi……..... 24

2.4. Over Hormonları…….…….. 28

2.4.1. Östrojen……...…… 28

2.4.2. Östrojenin Etkileri…….. 30

2.4.3. Östrojenin Yıkımı…….. 30

2.4.4. Progesteron…….…… 31

2.4.5. Progesteronun Etkileri…… 31

2.5. Menstrüel Siklus…….…..…….. 32

2.5.1. Menstrüasyon…… 33

2.5.2. Foliküler Faz…….……..34

2.5.3. Ovulasyon…….. 34

2.5.4. Luteal Faz……..…….. 35

2.6. Hipotalamo-Pituiter-Gonadal Aks…… 36

2.7. Ovaryan Yetmezlik ……..……..… 37

2.7.1. Primer/Prematür Ovaryan Yetmezlik…….. 37

2.7.2. Genel Bilgiler……..37

2.7.3. Tanım…….…… 38

2.7.4. Epidemiyoloji…….……39

2.7.5. Etiyoloji…….…… 40

2.7.5.1. Genetik Nedenler…… 40

2.7.5.1.1 Turner Sendromu…… 41

2.7.5.1.2. FMR Premutasyon…… 41

2.7.5.1.3. Galaktozemi…….. 42

2.7.5.1.4. BRCA1 ve 2 Mutasyonları…… 43

2.7.5.1.5. Diğer Gen Mutasyonları…… 44

2.7.5.2. Enfeksiyöz Nedenler…….. 44

2.7.5.3. Otoimmünite……. 45

2.7.5.4. İyatrojenik Nedenler……. 45

2.7.5.4.1. Kemoterapötik Ajanlar……. 45

2.7.5.4.2. Radyasyon……. 46

2.7.5.4.3. Cerrahi Operasyonlar…… 47

2.7.6. Belirtiler……...……..…… 48

2.7.7. Kronik (Uzun Vadeli) Komplikasyonlar…….. 50

2.7.7.1. Kas İskelet Sistemi…… 50

2.7.7.2. Kardiyovasküler Sistem…… 50

2.7.7.3. Genitoüriner Sistem…….. 51

2.7.7.4. Kognitif ve Nörolojik Sistem…… 52

2.7.7.5. İnfertilite…… 52

2.7.7.6. Morbidite ve Mortalite…….. 52

2.7.8. Tanı……..…… 53

2.7.9. Ayırıcı Tanı……..…… 55

2.7.10. Tedavi…….…….. 56

2.7.10.1. Hormon Replasman Tedavisi…… 56

2.7.10.2. Plateletten Zengin Plazma…… 58

2.7.10.3. Kök Hücre Transferi……. 58

2.7.10.4. Psikolojik Destek……. 59

2.7.10.5. Genetik Danışmanlık……... 59

2.8. Sekonder Over Yetmezliği…….....…… 62

2.8.1. Hipotalamus Kaynaklı Over Yetmezliği..…….. 62

2.8.2. Hipofiz Kaynaklı Over Yetmezliği……..…….. 64

2.8.3. Hiperandrogenemik Over Yetmezliği…… 66

2.9. Anjiotensin Reseptör Blokerleri…… 68

2.9.1. Kandesartan…….…….. 68

2.9.2. Valsartan……..…….…… 70

2.9.3. Telmisartan……...…….……. 71

2.10. Kemoterapötik Ajanlar……..…….. 72

2.10.1. Alkilleyici Ajanlar……... 73

2.10.2. Antimetabolitler…….. 74

2.10.3. Bitki Alkaloidleri…… 74

2.10.4. Antitümör Antibiyotikler…… 74

2.10.5. Siklofosfamid……. 75

2.10.5.1. Yan Etki ve Riskleri…….. 75

3. GEREÇ VE YÖNTEM…….. 78

4. BULGULAR……..... 84

5. TARTIŞMA……. 90

6. SONUÇ……..…….. 102

7. KAYNAKLAR……..…….. 104

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 2020 Yılında Kanser Oranları…… 20

Şekil 2. Fare, Sıçan ve İnsan Arasında Benzerlik ve Farklılıklar ……21

Şekil 3. Overin Yapısal Özellikleri…….. 23

Şekil 4. Overlerin Beslenmesi…… 23

Şekil 5. Gonadal Göç…….…… 24

Şekil 6. Overlerin Foliküler Gelişimi……..…… 26

Şekil 7. İki Hücre Teorisi……..…… 29

Şekil 8. Menstrüel Siklus……. 32

Şekil 9. Hipotalamo-Pituiter-Gonadal Aks……..…… 36

Şekil 10. Yaşa Göre Over Yetmezliği Prevelansı…….……..... 39

Şekil 11. Over Yetmezliğinin Tanısında Önemli Değerlendirmeler……..... 54

Şekil 12. Kemoterapötik Ajanların Gonadotoksik Etkileri…….……..... 77

Şekil 13. SOD Seviyesi…….. 85

Şekil 14. FSH Seviyesi……..85

Şekil 15. AMH Seviyesi…….……86

Şekil 16. Estradiol Seviyesi……86

Şekil 17. Primordial Folikül Sayısı……...…….. 87

Şekil 18. Primer Folikül Sayısı……..…… 87

Şekil 19. Sekonder Folikül Sayısı……...…… 88

Şekil 20. Antral Folikül Sayısı……...…… 88

Şekil 21. Toplam Folikül Sayısı……...……..89

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Gonadotoksisite Yapan İlaçlar…….. 46

Tablo 2. ARB'lerin Özellikleri…… 71

Tablo 3. Deney Grupları ve Sayıları…… 79

Tablo 4. Deneyde Kullanılan Ajanlar ve Özellikleri…… 81

Tablo 5. Biyokimyasal ve Histopatolojik Sonuçlar…….…… 84

KISALTMALAR LİSTESİ

OMİ:	Oosit Matürasyon İnhibitörü
GnRH:	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
FSH:	Folikül Stimülan Hormon
FSHR:	Folikül Stimülan Hormon Reseptörü
LH:	Luteinleştirici Hormon
LHR:	Luteinleştirici Hormon Reseptörü
TSH:	Tiroid Stimulan Hormon
AMH:	Anti Mülleryan Hormon
ACTH:	Adrenokortikotropik Hormon
PRL:	Prolaktin
GH:	Büyüme Hormonu
ZP:	Zona Pellusida Proteini
cAMP:	Siklik Adenozin Monofosfat
E1:	Östron
E2:	17-Beta Östradiol
E3:	Östriol
DHEA:	Dehidroepiandrosteron
DHEAS:	Dehidroepiandrosteron Sülfat
HDL:	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
LDL:	Düşük Dansiteli Lipoprotein

HCG:	İnsan Koryonik Gonadotropin
HPG aks:	Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal Ekseni
POF:	Prematür Over Yetmezliği
POI:	Prematür Over Yetersizliği
POY:	Primer/Prematür Ovaryen Yetmezlik
CTX:	Siklofosfamid
COF:	Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik
SOD:	Süperoksit Dismutaz
AII:	Anjiyotensin II
AT1:	Anjiotensin II Tip 1
RAAS:	Renin-Anjiotensin-Aldosteron Sistemi
İTP:	İdiyopatik Trombositopenik Purpura
APECED:	Otoimmün Poliendokrinopati-Kandidiyazis-Ektodermal Distrofi
AIRE:	Otoimmün Düzenleyici
FOXL2:	Forkhead Box Protein L2
BPES:	Blefarofimozis, Pitozis, ve Epikantus Inversus *Sendromu*
FMR1:	Frajil X Mental Retardasyon Gen 1
CGG:	Sitozin-Guanin-Guanin
FXTAS:	Frajil X- İlişkili Tremor/ Ataksi Sendromu
BMP15:	Kemik Morfojenik Protein 15
DEXA:	Kemik Mineral Dansitometresi
HRT:	Hormon Replasman Tedavisi
PI3K:	Fosfatidilinozitol 3 Kinaz

AGS:	Adrenogenital Sendrom
IVA:	In Vitro Aktivasyo
IVF:	İn Vitro Fertilizasyon
ICSI:	Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
PRP:	Plateletten Zengin Plazma
ARB:	Anjiotensin Reseptör Blokeri
PKOS:	Polikistik Over Sendromu
PPAR:	Peroksizom Proliferatörü ile Aktive olan Reseptör
ACE:	Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
ROT:	Reaktif Oksijen Türevleri
MSG:	Monosodyum Glutamat
NMDA:	N-Metil-D-Aspartik Asit
mGluR:	Metabotropik Glutamat Reseptörü
ADM2:	Adremedullin2
CALCRL:	Kalsitonin Benzeri Resepör
CRC:	Kurkumin
CPS:	Kapsaisin
AMPK:	Adenozin Monofosfat ile Aktifleştirilen Protein Kinaz
mTOR:	Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
RNA:	Ribonükleik Asit
mRNA:	Haberci RNA
MDA:	Metilendioksiamfetamin

SIRT:	Sirtuin
ESC-SEV:	Embriyonik Kök Hücre Kaynaklı Küçük Ekstraselüler Veziküller
ELISA:	Enzime Bağlı İmmünosorban Yöntem
USG:	Ultrasonografi

ÖZET

Giriş ve Amaç: Erken over yetmezliği (Prematür over yetmezliği-POY) günümüzde giderek artan ve kadın üreme sağlığını ciddi bir şekilde tehdit eden hipoöstrojenik hipergonadizm ile karakterize bir tablodur. 40 yaşından önce over disfonksiyonu ile seyreden hastalığının nedenleri arasında antineoplastik tedavinin neden olduğu iyatrojenik POY büyük önem taşımaktadır. Özellikle alkilleyici özellikte olan kemoterapötik ajanların kullanımının kadın üreme sistemi üzerinde ciddi gonadotoksik etki oluşturduğu bilinmektedir. Bu çalışma ile sıçanlarda siklofosfamid'e (CTX) bağlı iyatrojenik erken ovaryen yetmezlik modelinde anjiotensin reseptör blokerlerinden (ARB) kandesartan, valsartan ve telmisartan kullanımının overe etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya dahil edilen 12 haftalık 185-224 gram ağırlığında 30 adet dişi Wistar Albino cinsi sıçanlar 6'şar adet olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır. Altı sıçan plasebo grubu için ayrıldı ve kalan 24 sıçan ile siklofosfamid kaynaklı erken ovaryen yetmezlik (COF) modeli oluşturuldu. Ardından ARB grubunda yer alan kandesartan, valsartan ve telmisartan'ın COF üzerindeki etkilerini belirlemek için alt gruplar oluşturuldu. Gruplarda biyokimyasal ve histopatolojik parametreler değerlendirildi. Serum örneklerinde AMH, Estradiol (E2), FSH ve Superoksit dismutaz seviyeleri ölçülmüştür. Histopatolojik değerlendirmede ise overlerde folikül sayımı yapılmıştır.

Bulgular: Overlerde toplam folikül sayısında siklofosfamid uygulaması sonrası herhangi bir ARB kullanılmadığında anlamlı olarak folikül sayısında azalma izlenmiştir ($p<0.05$). Oysa ARB kullanımı ile birlikte toplam folikül sayısının korunabilindiği tespit edilmiştir. Biyokimyasal olarak değerlendiridiğimizde ise E2 başta olmak üzere tüm parametrelerde ARB kullanımının overi siklofosfamidin gonadotoksisitesinden koruduğu gösterilmiştir ($p>0.05$).

Sonuç: Elde ettiğimiz verilere göre üç ARB ajanının da biyokimyasal ve histopatolojik açıdan gonadlar üzerine koruyucu etkileri gözlemlenmiştir fakat daha fazla ileri düzey bilimsel araştırma gereksinimi vardır.

Anahtar Kelimeler: Siklofosfamid, Prematür Ovaryan Yetmezlik, Anjiotensin reseptör blokerleri, Kandesartan, Valsartan, Telmisartan

ABSTRACT

Introduction: Premature ovarian failure (POI) is a condition characterized by hypoestrogenic hypergonadism, which is increasing day by day and seriously threatens female reproductive health. Iatrogenic POI caused by antineoplastic therapy is of great importance among the causes of the disease progressing with ovarian dysfunction before the age of 40. It is known that the use of chemotherapeutic agents, especially with alkylating properties, has a serious gonadotoxic effect on the female reproductive system. In this study, it was aimed to investigate the effects of angiotensin receptor blockers (ARB) candesartan, valsartan and telmisartan on the ovary in iatrogenic early ovarian failure model due to cyclophosphamide (CTX) in rats.

Materials and Methods: Thirty female Wistar Albino rats weighing 185-224 grams at the age of 12 weeks included in the study were divided into 5 groups so that there were 6 pieces. Six rats were reserved for the placebo group, and a cyclophosphamide-induced premature ovarian failure (COF) model was created with the remaining 24 rats. Then, subgroups were formed to determine the effects of candesartan, valsartan and telmisartan in the ARB group on COF. Biochemical and histopathological parameters were evaluated in the groups. AMH, Estradiol (E2), FSH and Superoxide dismutase (SOD) levels were evaluated in serum samples. In the histopathological evaluation, follicle count was made in the ovaries.

Results: A significant decrease was observed in the total number of follicles in the ovaries when no ARB was used after cyclophosphamide application ($p<0.05$). However, it has been determined that the total number of follicles can be maintained with the use of ARB. When evaluated biochemically, it has been shown that the use of ARB in all parameters, especially E2, protects the ovary from gonadotoxicity of cyclophosphamide ($p>0.05$).

Conclusion: According to the data we obtained, protective effects of all three ARB agents on the gonads in terms of biochemical and histopathology were observed, but more advanced scientific research is needed.

Keywords: Cyclophosphamide, Premature Ovarian Insufficiency, Angiotensin receptor blockers, Candesartan, Valsartan, Telmisartan

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: Vorzeitige Ovarialinsuffizienz ist ein Zustand, der durch einen hypoöstrogenen Hypergonadismus gekennzeichnet ist, der von Tag zu Tag zunimmt und die reproduktive Gesundheit der Frau ernsthaft bedroht. Unter den Ursachen dieser Krankheit, die mit ovarieller Dysfunktion vor dem 40.Lebensjahr fortschreitet, ist die İatrogene POİ, die durch eine antineoplastische Therapie verursacht werden kann, von großer Bedeutung. Es ist bekannt, dass die Verwendung von Chemotherapeutika, insbesondere mit alkylierenden Eigenschaften, eine ernsthafte gonadotoxische Wirkung auf das weibliche Fortpflanzungssystem hat. Das Ziel dieser Studie war es, die Wirkungen der Angiotensin-Rezeptorblocker (ARB) Candesartan, Valsartan und Telmisartan auf die Eierstöcke in einem Cyclophosphamid-induzierten Ovarialversagen-Modell bei Ratten zu untersuchen.

Material und Methoden: Dreißig weibliche Wistar-Albino-Ratten mit einem Gewicht von 185–224 Gramm im Alter von 12 Wochen, die in die Studie eingeschlossen wurden, wurden in 5 Gruppen zu je 6 eingeteilt. Sechs Ratten wurden für die Placebo-Gruppe getrennt und mit den restlichen 24 Ratten wurde ein Cyclophosphamid-induziertes frühes ovarialversagen (COF)- Modell erstellt. Es wurden Untergruppen gebildet, um die Auswirkungen von Candesartan, Valsartan und Telmisartan auf COF zu bestimmen. Biochemische und histopathologische Parameter wurden in den Gruppen ausgewertet. In Serumproben wurden AMH, Estradiol (E2), FSH und Superoxiddismutase (SOD) gemessen. Bei der histopathologischen Untersuchung wurde eine Follikelzählung vorgenommen.

Ergebnisse: Nach der Anwendung von Cyclophosphamid kommt es zu einem Verlust der Gesamtzahl der Follikel in den Eierstöcken, wenn kein Angiotensin-Rezeptorblocker verwendet wird ($p<0,05$). Es wurde jedoch festgestellt, dass die Gesamtzahl der Follikel durch die Verwendung von ARB erhalten werden kann. Bei biochemischer Bewertung wurde gezeigt, dass die Verwendung von ARB bei allen Parametern, insbesondere bei E2, die Eierstöcke vor der Gonadotoxizität von Cyclophosphamid schützt ($p> 0,05$).

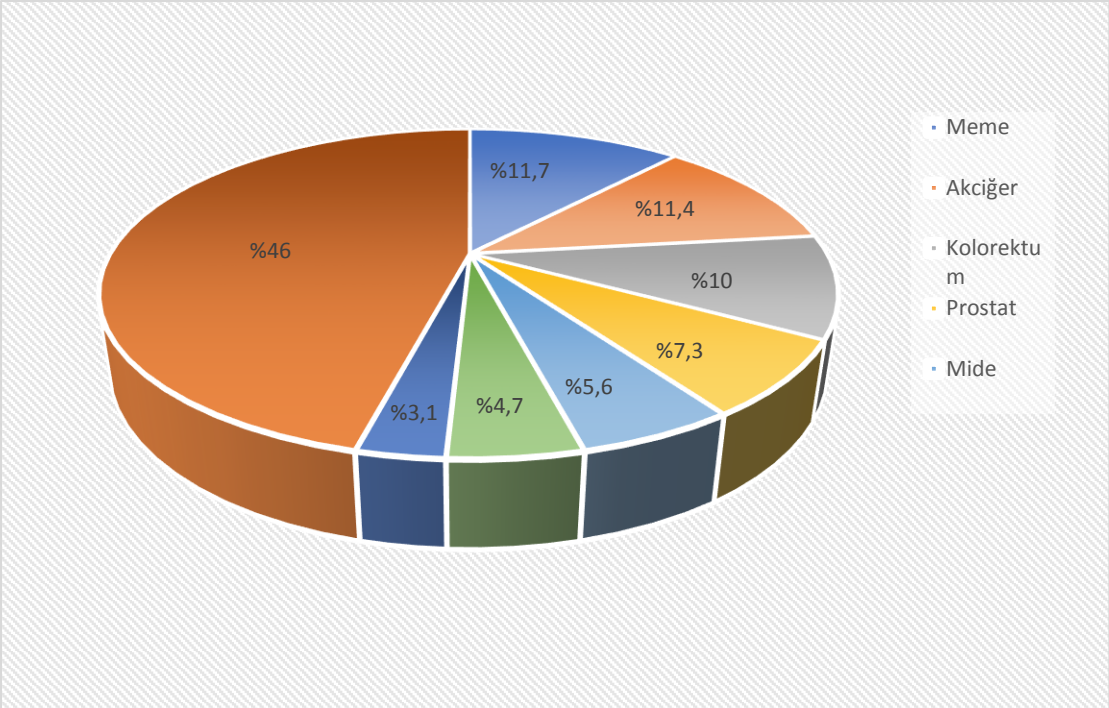
Schlussfolgerung: Gemäß den von uns erhaltenen Daten wurden biochemische und histopathologische Schutzwirkungen aller drei ARB-Mittel auf die Keimdrüsen beobachtet, aber es bedarf weiterer wissenschaftlicher Forschung.

Schlüsselwörter: Cyclophosphamid, vorzeitige Ovarialinsuffizienz, Angiotensinrezeptorblocker, Candesartan, Valsartan, Telmisartan

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Üreme çağındaki kadınlar reprodüktif dönem boyunca her menstrüel siklusun ortasında ovulasyona uğrar. Overlerde bulunan 400-450 bin primordial foliküllerden yalnızca 400 tanesi ovulasyon ve fertilizasyon kapasitesine erişebilir. Diğerleri gelişmenin farklı evrelerinde atreziye uğrarlar [1]. Menopoz dönemi yaklaştıkça foliküllerin çoğu tükenir ve overlerin hormon üretimi azalır. Doğal menopoz yaşından çok daha önce over işlevselliğinin herhangi bir nedenden dolayı bozulması erken over yetmezliği (POY) adı verilen ve birçok sorunu beraberinde getiren bir durumdur. Çoğu vakada POY nedeni idiyopatik olsa da hastaların bir kısmında altta yatan iyatrojenik nedenler bulunmaktadır [2]. Dünya sağlık örgütünün açıkladığı verilere göre 2020 yılında dünya genelinde 20 milyona yakın yeni kanser teşhisi konulmuştur. Bu kanser vakalarının, yaş ve cinsiyet ayırt edilmeksizin, tiplerine göre dağılımları Şekil 1 de gösterilmiştir. Türkiyede 2020 yılında 233.834 yeni kanser tanısı konulmuştur. Bu sonuçlar her iki cinsiyeti, tüm yaş gruplarını ve malignite tiplerinin hepsini kapsamaktadır. Aynı yıl 126.335 hasta kanser nedeniyle yaşamını yitirmiştir. 5 yıllık sağkalım 581.636 kişi için raporlanmıştır [3]. Yeni araştırmalar ve gelişmeler sayesinde güncel tedavi yaklaşımları (modern kemoterapi ve radyoterapi ajanları) ile birçok kanser vakası erken teşhis edilmektedir. Etkin bir şekilde tedavi edilip 5 yıllık sağkalım oranlarının artmasıyla kanser hastalarının yaşam kalitesi ile ilgili konular güncellik kazanmıştır. Bu konulardan biride kadın üreme sağlığıdır. Özellikle alkilleyici özellikte olan kemoterapötik ajanların kullanımının kadın üreme sistemi üzerinde ciddi gonadotoksik etki oluşturduğu bilinmektedir. Kemoterapiyi takiben over rezervinin ne kadar hasara uğrayacağı tedavinin türüne, dozuna, önceki over rezervine ve uygulama sırasındaki hasta yaşına bağlıdır. Kemoterapi ilaçlarının dişi üreme sistemi üzerindeki etkileri, ilk defa 1970'lerde siklofosfamid (CTX) üzerinden

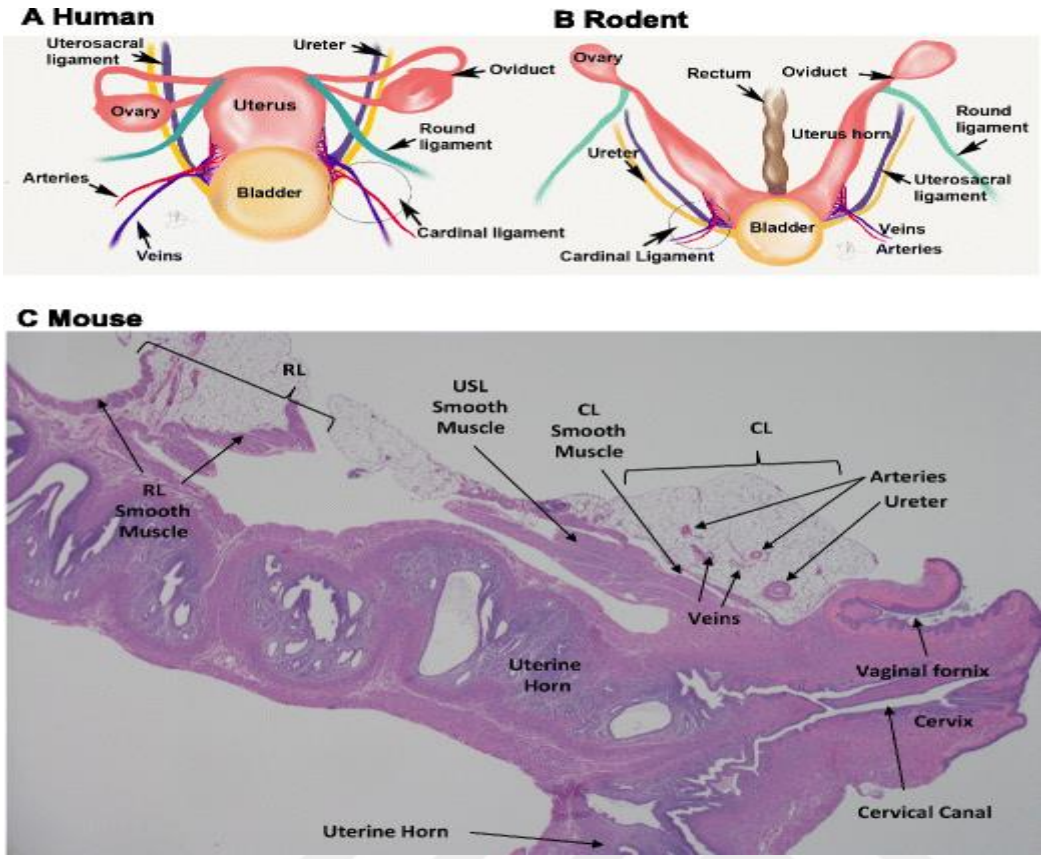
rapor edilmeye başlanmıştır [4]. Kemoterapi ve radyoterapi tedavileri granüloza hücrelerinde apoptozise neden olur [5,6]. Yapılan birçok klinik ve hayvan çalışmasında alkilleyici özellikte olan CTX'in overler üzerinde en fazla toksisiteye sebebiyet veren ajan olduğunu göstermiştir (Tablo 1.). CTX'in fare oositlerinde, oksidatif strese verilen adaptif yanıtın bir sonucu olarak sirtuin (SIRT1) isimli bir proteinin artmasına neden olduğu görülmüştür. Bu bulgular ışığında SIRT1'in ve dolayısıyla CTX'in hem inflamasyona hem de oksidatif strese neden olduğu düşünülmektedir [7-8]. Fare ve sıçan modelleri, prematür over yetmezliğinde yer alan genetik ve moleküler mekanizmaları tanımlamanın yanı sıra yeni terapötiklerin geliştirilmesine yönelik veriler elde etmek için uzun süredir kullanılmaktadır. Her iki hayvan da over gelişim süreçleri ve işlevleri bakımından insanlarla yüksek derecede benzerliğe sahiptir (Şekil 2.). Kanıta dayalı tedavi kılavuzlarının geliştirilmesine yardımcı olmak, uzun vadeli komplikasyonları azaltmak ve optimum yaşam standartlarına ulaşabilmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmada siklofosfamid kaynaklı erken over yetmezliği (COF) modelinde ARB kullanımının overleri ve over rezervine koruyucu etkisini araştırmayı planladık.



Şekil 1. 2020 Yılında Kanser Oranları [9]

ARB'lerin CTX'in sebep olduğu nefrotoksisite, hepatik fibroz ve miyokardial iskemi / reperfüzyon hasarı dahil olmak üzere çeşitli hayvan modellerinde olumlu antioksidan, antiinflamatuar ve antiapoptotik aktiviteleri gösterilmiştir [10,11,12,13].

Bu deneysel çalışma ARB olan kandesartan, valsartan ve telmisartan'ın POY durumlarında over rezervine koruyucu etkisini gösterecek ilk çalışma olacaktır. Böylece adölesan dönemde bile görülebilen ve infertiliteye yol açan POY ile ilgili yeni bir tedavi modalitesi oluşturulabilecektir.



Şekil 2. Fare, Sıçan ve İnsan Arasında Benzerlik ve Farklılıklar [14]

A- İnsanda pelvik destek bağlarının anatomisi. Üreter, serviksin lateralinde bulunur ve uterosakral ligamentin üzerinden ve kardinal ligament içindeki uterin arter ve venlerin altından geçer.

B- İnsan pelvik ligamentlere benzeyen kardinal ligament, uterosakral ligament ve round ligament insersiyonlarını gösteren kemirgen bikornuat uterus. Üreter uterosakral ligament üzerinden geçer ve insanlarda gözlemlendiği gibi kardinal ligament boyunca uterin arter ve venlerin altından geçer.

C- Fare serviksinin ve pelvik ligamentlerın göreceli anatomik ilişkilerini gösteren uterus kornlarından birinin uzunlamasına kesiti. Fare kardinal ligament ve uterosakral ligament servikal os seviyesinde servikse girer. Round ligament tubalara yakın uterus kornlarından köken alır.

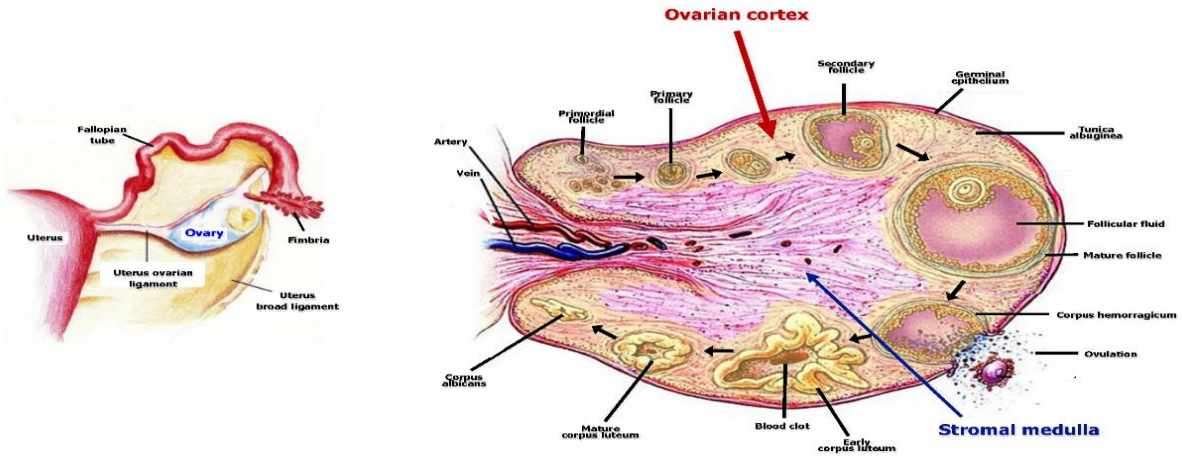
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Overin Morfolojisi

Overler, kadın genital sistemin önemli bir parçası olan ve fossa ovaricanın her iki yanında lokalize olan intraperitoneal bir çift endokrin organdır. Yetişkin bir kadında overler sert ve oval şekillidir. Boyutları yaklaşık 3,5 cm x 1,5 cm x 1 cm'dir ve her biri yaklaşık 6-10 gr ağırlığındadır. Ligamentum latumun arka yaprağından oluşan mezovarium ile fossa ovaricaya tutunurlar. Fossa ovarica, eksternal iliak arter tarafından sınırlanan ve üreter ile internal iliak arterin önünde bulunan bölgedir. Over dokusunun üç ana histolojik özelliği vardır [15]:

- **Yüzey**- Germinal epitelden oluşur. Bu tabakanın altında yoğun bir bağ dokusu kapsülü bulunur.
- **Korteks-** Bağ dokusu stroması ve çok sayıda folikülden oluşur. Her folikül, tek bir foliküler hücre tabakası ile çevrili bir oosit içerir. Korteks damarlardan zengindir ve burada, olgunlaşmanın çeşitli aşamalarında olan çok sayıda oositleri içeren, foliküller yer alır. Bu sebeple overlerin fonksiyonel tabakası korteks olarak bilinir.
- **Medulla-** Gevşek bağ dokusu ve zengin bir nörovasküler ağdan oluşur.

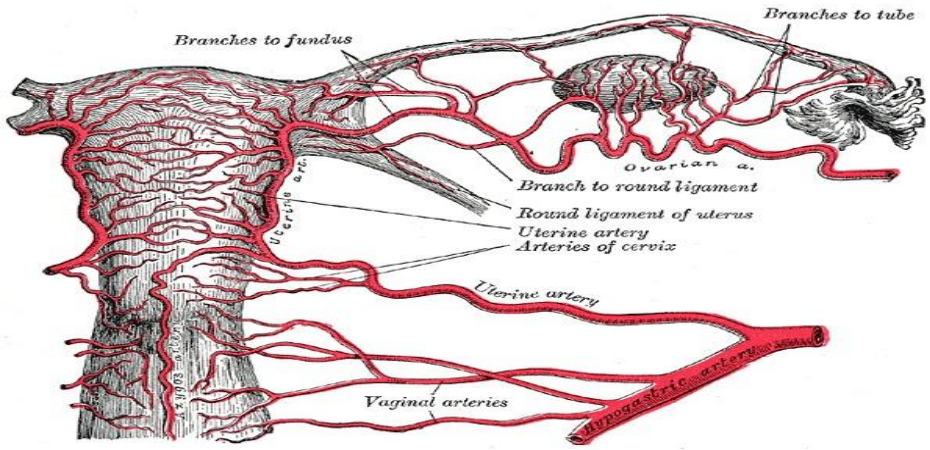
Over'e tutunan iki adet ligament bulunur. İnfundibulopelvik ligament overi pelvik yan duvara bağlayan ve içinde ovaryen arter bulunan ligamenttir. Overin uterusun yan duvarına tutunmasını sağlayan ise uteroovaryen ligamenttir.



Şekil 3. Overin Yapısal Özellikleri [16]

2.2. Overin Beslenmesi

Overin ana arteri ‘Arteria Ovarica’dır. Sağ tarafta abdominal aortadan köken alan ovaryen arter, sol tarafta renal arterden çıkar (Şekil 4.). Uterin arterin ovaryen dalı ile beraber hilustan ovaryuma girer ve burada dallara ayrılır. Venler genelde arterlerin seyrini izler ve hilustan çıktıklarında mesovarium tabakaları arasında pleksus pampiniformisi oluştururlar. Lenfatik sistem ise üreter boyunca seyreder ve böbrek inferiorunda, paraaortik lenf nodlarına drene olur [17].

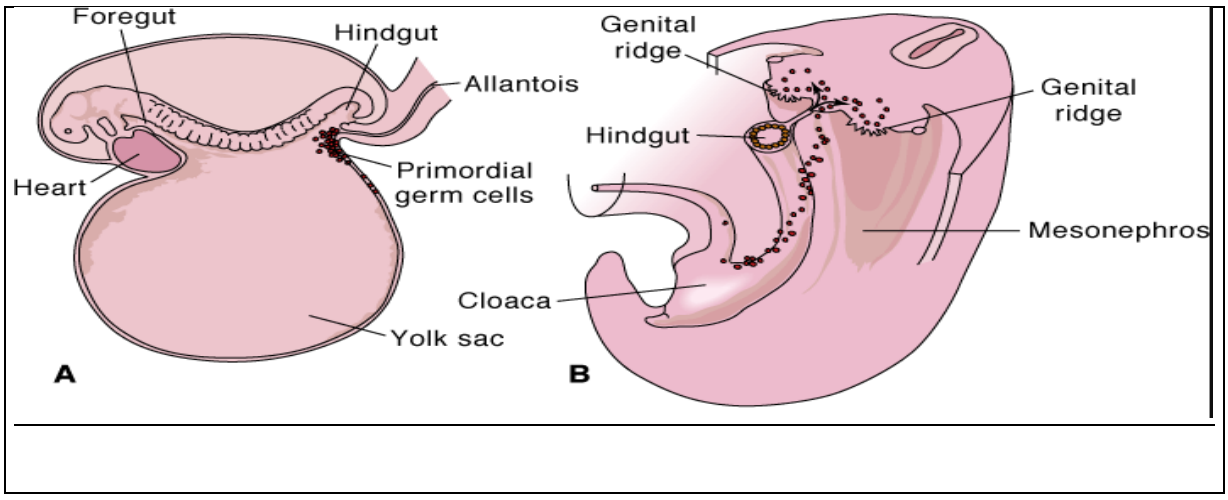


Şekil 4. Overlerin Beslenmesi [18]

2.3. Overin Embriyolojisi

İntrauterin dönem 3.haftada yolk sac duvarında primordial germ hücreleri görülür ve bu hücreler 4. ve 5.haftalarda gonadlara göç ederek farklılaşırlar (Şekil 5.). Yolk sac'tan ayrılarak gonadlara göç eden primordial germ hücreleri burada oogonyumlara dönüşür. Bölünme devam ederken bazı hücreler etrafına tek katlı squamöz epitel örtüsü alarak primer oositlere farklılaşırlar. İntrauterin 12.haftadan sonra bu primer oositler foliküler hücrelerden oluşan bir katmanla daha örtülür ki bu aşamadan sonra bu folikülün adı artık primodial folikül olur [19].

- Primer Oosit = Oogonyum + Tek katlı squamöz epitel örtüsü
- Primodiyal Folikül = Primer Oosit + Foliküler hücre örtüsü

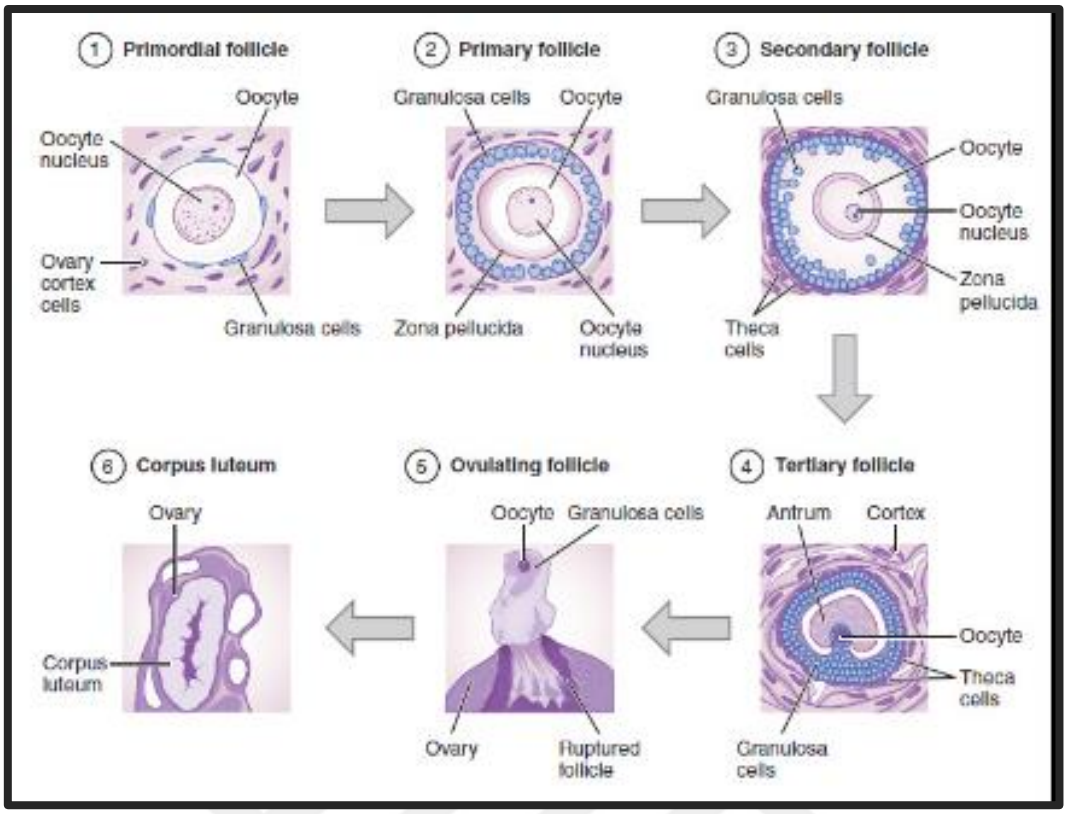


Şekil 5. Gonadal Göç [20]

Puberteye kadar 1.mayoz tamamlanamaz. Bu süre boyunca oositin olgunlaşması, primer oositi çevreleyen folikül hücreleri tarafından salgılanan Oocyte Maturation İnhibitör (OMİ) tarafından inhibe edilir [21]. Kız çocukları 1.mayozun profaz evresinde bekleyen yaklaşık 500.000- 2.000.000 primordiyal folikül ile doğarlar. Puberte ile birlikte adipoz dokudan leptin salgılanır, o ana dek nonpulsatil olan GnRH salgısı pulsatil olur ve FSH ile LH salgılanması uyarılır. FSH ve LH etkisiyle 400.000 primordiyal folikülden her siklus yaklaşık 10-15 tanesi gelişmeye başlar. FSH etkisiyle tek katlı squamöz epitel tek katlı kübik epitele dönüşür ve primer folikül adını alır. Primer folikülün içinde bulunan oosit hala 1.mayozun profazında bekleyen primer oosittir. Bu tek katlı primer folikül zona pellusida sentezlemeye başlar ve bu yapı, içinde pellusidin adlı proteinler (ZP-1, ZP-2, ZP-3) bulunduran çok önemli bir glikoproteindir [22]. FSH'ın devam eden etkisiyle tek katlı kübik epitel çoğalır ve çok katlı epitele dönüşür. Bu evrede artık granüloza ve teka hücreleri oluşur.

Teka hücreleri androjen üretir ve bu androjenler aromataz ile östrojene dönüştürülür. Gelişen çok katmanlı primer folikülde granüloza hücreleri östrojen, aktivin, inhibin, follistatin ve hyalüronik asit sentezlerler.

Hyalüronik asit lipid yapılı olmadığı için vasküler sisteme geçemez, folikül içinde birikmeye başlar ve bu birikim nedeniyle antrumlar oluşur. İçinde hyalüronik asitin bulunduğu bu antrumlu foliküle sekonder folikül denir [23]. Menstrüel siklusun 12-13.gününde antrumlar büyüyerek birleşir ve ortada tek büyük bir antrumun olduğu (Kumulus ooforus) bu folikül artık Graaf/Tersiyer/Ovulatuar folikül olarak isimlendirilir (Şekil 6.).



Şekil 6. Overlerin foliküler gelişimi [24]

Antrum'un büyüklüğünden dolayı oosit, çevresindeki OMİ salgılayan epitel hücrelerinden uzaklaşır ve dolayısıyla inhibisyon etkisinden kurtulur (14.gün). Ardından primer oosit olgunlaşıp değişime uğrayarak, 1.mayozun profazından ayrılıp 2.mayozun metafazına geçer ve sekonder oosit ismini alır. 2.mayoza girdiğinde oluşan yeni DNA (23N) PP39MOS adında bir onkogen üretir ve bu sayede oosit 2.mayozun metafazında durur.

PP39MOS'un inaktivasyonunu kalpain enzimi sağlarken, kalpainin çalışmasını indükleyen ise kalsiyumdur. Normal şartlarda kalsiyum granüllerin içinde bulunur ve açığa çıkmaz, dolayısıyla kalpain aktive olamaz ve PP39MOS oositi 2.mayozun metafazında durdurur [25]. Granüloza hücreleri tarafından salgılanan follistatin aktivini bağlarken, inhibin-B FSH'ı baskılar. Dolayısıyla FSH seviyeleri düşerken, LH seviyeleri artmaya devam eder. Ovulasyon

gerçekleşmeden önce stigma ovulasyon işaretini verir ve kollajenaz enzimi sayesinde folikülün önü açılır.

Folikül zona pellusida ve tek katlı birbirlerine hyalüronik asit ile birleşik korona radiata ile birlikte atılır. Fertilizasyon aşamasında sperm ile folikül karşılaştığında (Akrozom reaksiyonu) akrozom içindeki hyalüronidaz enzimi hyalüronik asit ile birleştirilmiş olan korona radiatanın parçalanmasına neden olur [26].

- Akrozom Reaksiyonu = Hyalüronidaz enzimi ile korona radiata hücreleri birbirinden ayrılırlar ve sperm membranı ile sekonder oosit membranı temas eder.

Akrozin ile nöraminidazın görevi ise zona pellusidayı yıkmaktır. Zona pellusida parçalanınca içinde bulunan ZP-3, sperm başındaki bağlanma bölgesine tutunur. Bu bağlanma gerçekleştiğinde akrozin ve nöraminidaz enzimleri folikül membranın yırtılmasına, dolayısıyla granüllerin içinde bulunan kalsiyumun açığa çıkmasına neden olurlar. Kalsiyumun bir kısmı hücre içine dökülerek kalpaini aktive edip PP39MOS aktivitesini inhibe eder ve bu sayede 2.mayoz bölünme tamamlanmış olur. Kalsiyumun diğer kısmı hücre dışına dökülür ve zona reaksiyonunun (ZP-3'leri parçalar) gerçekleşmesini sağlar. Bu zona reaksiyonu ile bir folikül bir sperm ile fertilize olduktan sonra diğer spermlere geçit vermez.

- Kadınlar 1.mayozun profaz evresinde bekleyen 500.000 – 2.000.000 primordiyal folikül ile doğar.
- Puberteye kadar 1.mayoz tamamlanamaz.
- Ovulasyondan hemen önce 1.mayoz tamamlanır ve sekonder oosit 2.mayozun metafazına geçer.
- Fertilizasyon gerçekleştiğinde 2.mayoz tamamlanır [27].

2.4. Over Hormonları

Overler kadın üreme sisteminin ana organı olup, östrojen ve progesteron başta olmak üzere birçok hormon üretirler. Her ikiside kan beyin bariyerini geçebilmektedir ve beynin birçok bölgesinde reseptörleri bulunmaktadır.

Daha az ölçüde, overler doğumdan önce relaksin hormonu salgılar. Diğer bir minör hormon ise, FSH'ı inhibe etmek üzere hipofize sinyal gönderen inhibindir. Bunların dışında follistatin, aktivin ve hyalüronik asit salgılarıda overler tarafından gerçekleştirilir.

2.4.1. Östrojen

Östrojen 18 karbonlu steroid yapılı bir hormondur. Gebe olmayan bir kadında, östrojen primer olarak foliküldeki granüloza ve teka hücrelerinden salgılanırken, gebe bir kadında plasentadan salgılanır. Östrojen üreme, nöroendokrin, iskelet, adipojenik ve kardiyovasküler sistemleri etkileyen multifonksiyonel bir hormondur. Bu hormonun biyolojik işlevlerine, farklı kromozomlarda bulunan farklı genler tarafından kodlanan, östrojen reseptörleri alfa ve beta aracılık eder [28].

3 major östrojen formu bulunmaktadır. Bu östrojenler (Östron-E1, Östradiol-E2, Östriol-E3) sinyal molekülleri olarak, vücutta meydana gelecek spesifik değişiklikleri bildirmek üzere hücrelerdeki reseptörlerine bağlanırlar.

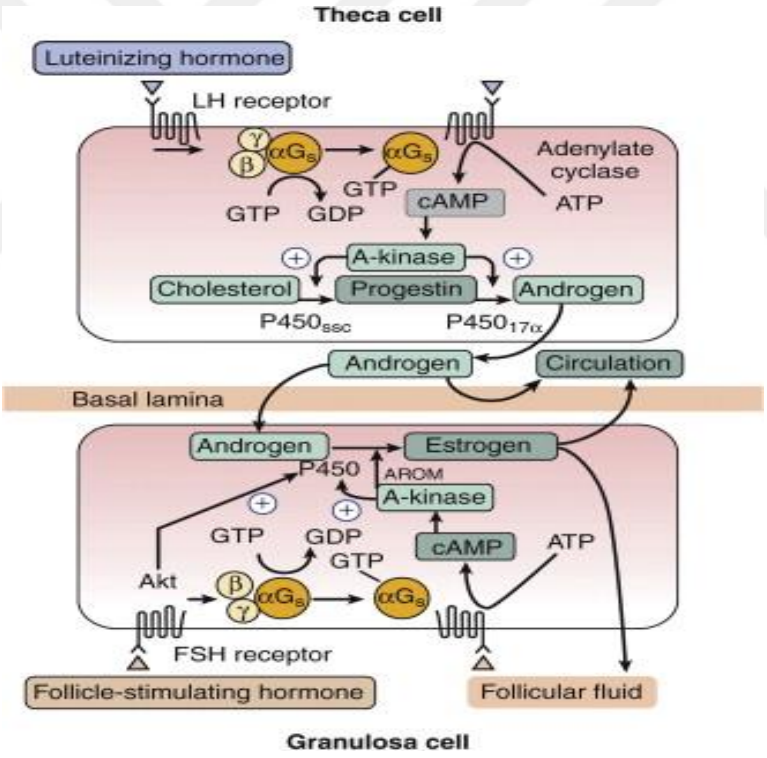
Östron (E1):

- Overden ve adrenal korteksten salgılanır.
- Periferde androstenediondan dönüşür.
- Postmenopozal kadınlarda hâkim olan östrojen formudur.

Östradiol (E2):

Granüloza hücreleri, E2'yi yalnızca kendisine sağlanan androjenlerle yapabilir ve ardından foliküler sıvıya salgılar. Granüloza hücrelerinde FSH reseptörü bulunur. FSH cAMP yolağıyla, aromataz aktivitesini arttırarak, E2 sekresyonunu arttırır (İki Hücre Teorisi Şekil 7.). Matür granüloza hücrelerinde ayrıca LH reseptörü de bulunur, LH bu şekilde E2 üretimini stimüle eder [29].

- Granüloza hücrelerinden salgılanır.
- En aktif östrojenik hormondur.
- Sekonder seks karakterleri gelişiminde çok önemlidir.



Şekil 7. İki Hücre Teorisi [30]

Teka hücreleri, LH'ye yanıt olarak kolesterolden androjenler üretir. Androjenler daha sonra granüloza hücrelerine taşınır ve burada FSH uyarısı ile östrojene dönüşümü sağlanır. Üretilen östrojen foliküler sıvıya salınır.

Östriol (E3):

- Düşük etkinliğe sahip östrojenik hormondur.
- Çoğunlukla E2'den sentezlenir.
- Gebelik sırasında plasentadan salgılanır.

2.4.2. Östrojenin Etkileri

- Sekonder seks karakterlerin oluşumuna katkı sağlar.
- Endometriumda belirgin proliferasyona ve endometrial glandların gelişmesine neden olur.
- Miyometriumun oksitosine olan sensitivitesini arttırır.
- Tubalarda siliyer motiliteyi sağlar.
- Memede duktusların gelişmesini sağlar.
- İskelet sisteminde osteoblastik aktiviteyi stimüle eder.
- Karaciğerde taşıyıcı globülinlerin ve anjiotensinin sentezini arttırır.
- Böbrek tübülüslerinde sodyum ve suyun reabsorbsiyonuna katkı sağlar.
- Ateroprotektif etkiye sahiptir.
- Nörolojik fonksiyonların geliştirilmesi ve sürdürülmesine katkıda bulunur [31].

2.4.3. Östrojenin Yıkımı

Ana yıkım organı karaciğerdir. E2 karaciğerde E1'e ardındanda E3'e dönüşür ve sonuç olarak glukronillenerek inaktive edilir. Safraya atıldıktan sonra enterohepatik siklusa girer ve idrarla atılır.

2.4.4. Progesteron

21 karbonlu bir steroiddir. Gebe olmayan bir kadında adrenal medulla ve overlerden salgılanırken gebe bir kadında plasentadan salgılanır. Steroid biyosentezinde ara maddedir. Fizyolojik etkilerini intranükleer progesteron reseptörlerine bağlanarak gösterir [31].

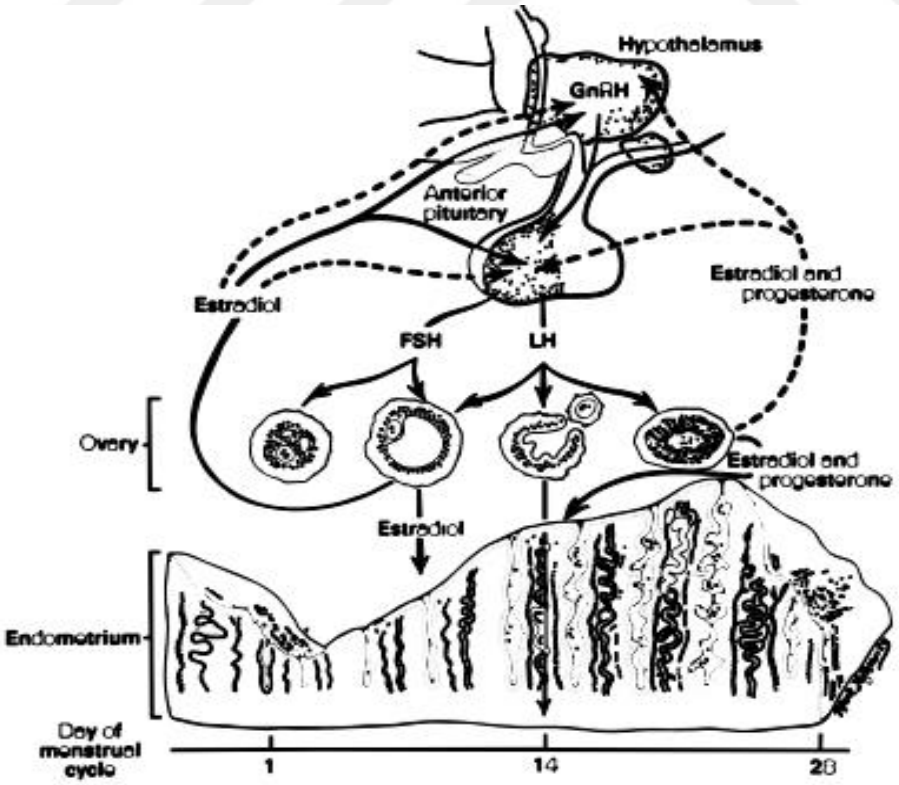
2.4.5. Progesteronun Etkileri

- Uterus üzerinde antiöstrojenik etkisi vardır.
- Miyometriumun oksitosine olan sensitivitesini azaltır.
- Miyometrium kontraktilitesinde azalma sağlar.
- Endometrial gland seksreyonunu arttırır.
- Endometriumu implantasyona hazırlar.
- Östrojen reseptör sayısını arttırır.
- Memelerde lobulo-alveolar gelişimi stimüle eder.
- Natriuretiktir.
- Termojeniktir, ovulasyonda bazal vücut ısısının artışından sorumludur [32].

Progesteron plazmada transkortin ve albümine bağlanarak taşınır. Karaciğerde pregnandiole dönüştürülür ve idrarla atılır.

2.5. Menstrüel Siklus

Menarşdan menopoza kadar tüm organizmayı etkileyen ve her ay tekrarlayan hormonal değişikliklere menstrüel siklus denir. Siklusun süresi ortalama 28±7 gündür. Menarşı takiben 2 yıl anovulatuar sikluslar sebebiyle menstrüel düzensizliklerin görülmesi beklenilen bir durumdur. Doğumda 1.mayozun profaz evresinde bekleyen primordiyal foliküllerden bazıları her siklusta hormonların, büyüme faktörlerin ve diğer uyarıcıların etkisiyle olgunlaşır. Dominant folikül seçildikten sonra diğer foliküller atreziye uğrar. Menstrüel siklus, foliküler faz-luteal faz ve buna karşılık gelen proliferatif faz-sekretuar fazlardan oluşur Menstrüel döngü bir biofeedback sistemidir. Her yapı ve bez, diğerlerinin aktivitelerinden etkilenir (Şekil 8.).



Şekil 8. Menstrüel Siklus [33]

Menstrüel siklusun dört basamağı vardır. Bunlar:

1. Menstrüasyon
2. Foliküler faz
3. Ovulasyon
4. Luteal faz

2.5.1. Menstrüasyon

Önceki menstrüel siklusta fertilizasyon gerçekleşmez ise östrojen ve progesteron seviyeleri düşer ve kalınlaşan endometrial tabaka vajen yoluyla vücuttan atılır. Endometrium zona bazalis, zona spongioza ve zona kompakta olmak üzere üç tabakadan oluşur. Progesteron seviyesindeki bu düşüş, endometriumda zona kompakta tabakasındaki spiral arterlerin beslenememesine ve tabakanın ayrılmasına neden olarak menstrüel kanamayı başlatır.

Menstrüasyon sıvısı, eritrosit, endometrial hücre ve gland salıgısı içerir. Bir siklusta menstrüel kanama ortalama 2-7 gün sürer ve kanama süresince kaybedilen kan miktarı yaklaşık 20-60ml'dir. Bir siklusun ilk gününden sonraki siklusun ilk gününe kadar geçen süre 21-35 gün arasında değişir. Menstrüel kanamanın ilk günü siklusun ilk günü olarak kabul edilir.

2.5.2. Foliküler Faz

Foliküler faz menstrüel siklusun ilk gününde başlar ve ovulasyon ile sona erer. Hipotalamus tarafından uyarılan hipofiz bezi, FSH salgılar ve bu hormon overleri seks hormon üretimi için uyarır. Her folikül olgunlaşmamış bir oosit barındırır. Genellikle sadece bir folikül olgunlaşarak dominant hale dönüşürken diğerleri atreziye uğrar. Foliküler fazda östrojen artarak, negatif feedback ile, GnRH'ı ve dolayısıyla FSH ve LH'ı baskılar. Ancak 13.gün civarında bu negatif feedback yerini pozitif feedback'e bırakır. GnRH ve dolayısıyla FSH ile LH yeniden artar. Daha sonra granüloza hücreleri FSH dışında follistatin, inhibin, aktivin ve hyalüronik asit salgısı da yapar. Follistatin aktivini inhibe ederken, inhibin-B FSH'ı baskılar. Buna rağmen LH artışı devam eder ve sonuçta LH pikiyle ovulasyon gerçekleşir.

2.5.3. Ovulasyon

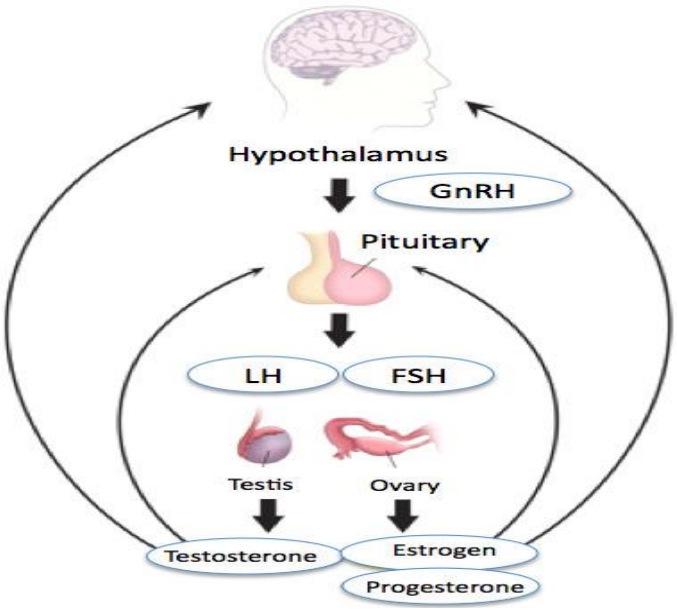
Ovulasyon folikülün rüptüre olup içindeki ovumun atılmasıdır. Bu genellikle menstrüel kanamanın başlamasından yaklaşık iki hafta önce, siklusun ortasında gerçekleşir. Tipik bir ovumun ömrü sadece 24 saat kadardır. Bu süre içinde bir spermle karşılaşmaz ise atreziye uğrar. Ovum, fallop tüpünün fimbriaları tarafından tutularak endometriuma taşınır. Foliküler faz sırasında, gelişen folikül östrojen seviyesinde bir artışa neden olur. Hipotalamus bu yükselen seviyeleri algılayıp GnRH salgılar. Bu hormon, hipofiz bezini yüksek seviyelerde LH ve FSH üretmeye yönlendirir. İki gün içinde, yüksek LH seviyeleri ovulasyonu tetikler. Ovulasyonda korpus luteum oluşur ve burada çok miktarda progesteron ve bunun yanı sıra az miktarda östrojen yapımı olur. Östrojen negatif feedback ile hem FSH'ı hem LH'ı inhibe eder. Korpus lutemun ömrü 13-14 gün kadardır ve eğer fertilizasyon gerçekleşmez ise progesteron üretimi düşer. Fertilizasyon ve ardından implantasyon gerçekleşirse b-hCG korpus lutemunun devamlılığını sağlar.

2.5.4. Luteal Faz

Ovulasyon sırasında, ovum folikülünden çıkar, ancak yırtılan folikül over yüzeyinde kalır. Sonraki iki hafta boyunca, folikül korpus luteum olarak bilinen bir yapıya dönüşür. Bu yapı, az miktarda östrojen ile birlikte progesteron salgılamaya başlar. Bu hormon kombinasyonu, fertilize olmuş bir ovumun uterusa implantasyonu için gerekli olan endometrial zemini oluşturur. Fertilize bir ovum endometriuma implante olursa, korpus luteumu korumak için gerekli olan hormonların üretimini indükler. Korpus luteum, uterusun prolifere olmuş endometrial tabakasını sürdürmek için gerekli olan yüksek progesteron seviyelerini üretmeye devam eder. Konsepsiyon olmazsa, korpus luteum kaybolur ve progesteron seviyesinde düşüş başlar.

2.6. Hipotalamo-Pituiter-Gonadal (HPG) Aks

Düzenli bir menstrüel siklus için fonksiyonel bir hipotalamo-hipofizer-gonadal aks ve sağlam bir genital trakt olmalıdır. Hipotalamusun arkuat nukleusunda spesifik frekans ve amplitüd ile pulsatil olarak salgılanan GnRH, anterior hipofizde bulunan gonadotrop hücrelerden FSH ve LH sentezini stimüle eder (Şekil 9.).



Şekil 9. Hipotalamo-Pituiter-Gonadal Aks [34]

FSH ve LH, öncelikle östrojen ve inhibin üretmek için overleri aktive eder. Östrojen, negatif feedback etkisiyle hipotalamusta GnRH üretimini baskılar. Östrojen ve LH arasındaki pozitif feedback döngüsü, ovulasyonu tetkikler ve endometriumu implantasyona hazırlar. Fertilizasyon ve implantasyon gerçekleştiğinde üretilen progesteron hipotalamus ve ön hipofizi inhibe eder ve plasenta progesteron salgısını devralır, bu nedenle gebe olan kadın tekrar ovulasyona uğrayamaz. Konsepsiyon oluşmazsa, progesteron seviyesinin düşmesi ile negatif feedback sonucu GnRH salgısı yeniden artar. Zamanla, bu aksın işlevselliği azalır ve kadınlar artık doğurganlığın yitirildiği menopoz dönemine girerler [35].

2.7. Ovaryan Yetmezlik

Overlerin fonksiyonu ve hormon üretimi hipotalamo-pituiter-gonadal aks (2.6. no'lu yazıda anlatılmıştır) stimülasyonu sayesinde (GnRH, Luteinize edici hormon-LH ve Folikül uyarıcı hormon-FSH) kontrol edilir. Bu üç seviyeden herhangi birinde meydana gelen bir aksaklık, over disfonksiyonuna yani over yetmezliğine yol açar. Bozukluğun düzeyine bağlı olarak, farklı nedenlere dayanan farklı over yetmezliği tipleri meydana gelir. Dolayısıyla sorunun seviyesine göre hastalık derecesi, tipi ve tedavi seçenekleri değişmektedir. Over yetmezliği iki kategoride incelenir; birincisi hipergonadotropik hipogonadizmden oluşan primer ovaryen yetmezlik, ikincisi ise sekonder ovaryen yetmezliktir. Sekonder ovaryan yetmezliğine hipogonadotropik hipogonadizm de denir ve bu yetmezlikte overler tamamen işlevseldir. Hipofiz bezi veya hipotalamustaki bir disfonksiyon gibi vücuttaki başka bir organ veya dokudaki bir hata sonucu olarak ortaya çıkar [36].

2.7.1. Primer/Prematür Ovaryen Yetmezlik

2.7.2. Genel Bilgiler

Prematür ovaryen yetmezlik 40 yaş altı kadınlarda görülen, 4 aydan daha uzun süren ve overlerin üreme ve hormonal fonksiyonlarında yetersizlik (erken folikül kaybı ve/veya mevcut foliküllerde disfonksiyon) ile karakterize bir hastalıktır. Bu tabloya aynı zamanda hipergonadotropik hipogonadizm de denir. Artmış serum FSH düzeyi ve amenore hem doğal menopoz hem de POY' da ortak bulgular gibi gözükse de doğal menopoz fizyolojik bir süreçtir, aniden/beklenmedik bir şekilde başlamamakla beraber patolojik bir sorun olmaksızın 12 aylık amenore sonrası retrospektif belirlenen adet periyodlarının temelli kesilmesi olarak

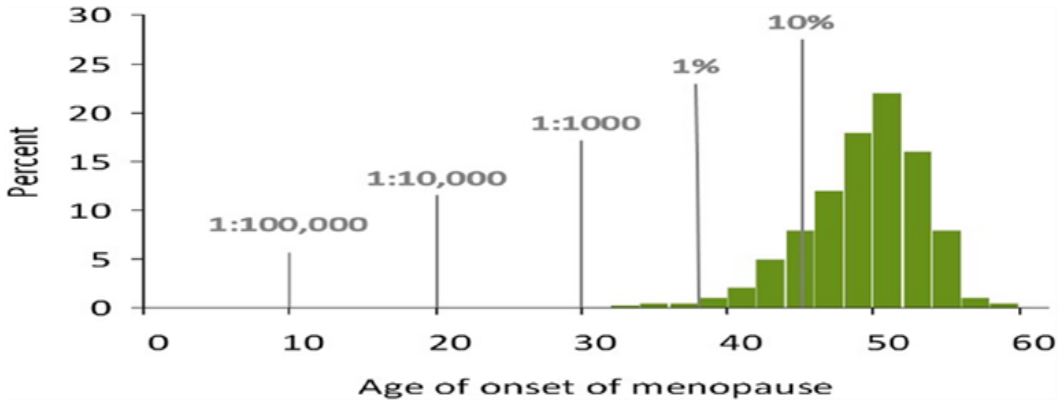
tarif edilir. Ayrıca POY tanısı alan kadınların yarısında overler tekrar görevlerini yerine getirebilirler ve buna bağlı menstrüel kanama ve hatta nadir de olsa spontan gebelik görülebilmektedir ki doğal menopozda fertilitenin yeniden kazanılması mümkün değildir [37]. Sonuç olarak 'prematür menopoz' ya da 'erken menopoz' terimleri POY' un klinik tablosunu tam olarak ifade etmekte yetersiz kalmaktadır [38]. Her ne kadar 'primer ovaryan yetmezlik' (POF) literatürde çok yerleşmiş bir terim olsa da bu terim yerine 'prematür ovaryan yetersizlik (POİ)' ya da primer over yetersizliği (POY) daha doğru bir ifadedir, çünkü 'yetersizlik' kelimesiyle overlerin işlevselliğinde bir bozukluk olduğunu fakat işlevselliğin devam edebildiğini anlıyoruz. Bu yazımda POF ve POİ, yerine primer ovaryen yetmezlik (POY) terimi kullanılacaktır.

2.7.3. Tanım

Overlerin görevi üreme için oositleri olgunlaştırmak, menstrüel siklusu ve diğer birçok süreci kontrol etmek için seks hormonlarını üretmektir. Kongenital veya edinsel olabilen bu hastalıkta hipotalamus ve hipofiz fonksiyonlarını eksiksiz yerine getirmelerine rağmen, overler işlevselliğini yitirmiştir. Over disfonksiyonu nedeniyle seks hormonların eksikliği hipotalamus tarafından algılanır ve GnRH salgısı arttırılır. Dolayısıyla hipofiz uyarılır ve buna bağlı FSH ile LH üretimi de artar. Gonadotropinlerin artmış üretimine rağmen overlerin fonksiyon görememesi hipergonadotropik hipogonadizm olarak tanımlanır. Foliküllerin prematür olarak tükenmesi neredeyse tüm hastalarda ana neden olmasına rağmen, ek spesifik değerlendirmeler ile hasta ve ailesinin diğer üyeleri için potansiyel sağlık etkileri olabilecek durumlar (kromozomal hastalıklar, diğer genetik anormallikler ve otoimmün hastalıklar gibi) ekarte edilmelidir [39].

2.7.4. Epidemiyoloji

POY, 20 yaşın altındaki 10.000 kadından 1'ini, 30 yaşın altındaki 1.000 kadından 1'ini ve 40 yaşın altındaki 100 kadından 1'ini etkileyen heterojen bir hastalıktır (Şekil 10 [42]). Spesifik veriler olmamasına rağmen, artan endişe iyatrojenik POY insidansının artmasıdır. Çocuk ve genç kadınlardaki malignitelerin kür sağlama konusundaki başarılı tedavi seçenekleri (Radyoterapi, kemoterapi gibi) nedeniyle iyatrojenik POY vakalarında artışa sebep olması muhtemel görülmektedir. 'Childhood Cancer Survivor Study'den elde edilen analizlerde, kanser tedavisi gören hastaların %6,3'ünde akut over yetmezliği geliştiği gözlemlenmiştir [40]. Amerika'da POY'un yaygınlık oranı tüm ırklarda %1,1, Kafkas kökenlilerde %1, Afrika kökenli-Amerikalılarda %1,4, İspanyol kökenlilerde %1,4, Çin kökenlilerde %0,5, Japon kökenlilerde ise %0,1 olarak saptanmıştır [41]. Irklar arasında bu kadar çeşitlilik görülmesi, POY etiyolojisinde genetik faktörlerin önemini göstermektedir.



Şekil 10. Yaşa Göre Over Yetmezliği Prevelansı [42]

2.7.5. Etiyoloji

POY'un nedenleri heterojendir ve vakaların %90'ı idiyopatiktir. Genetik nedenler, otoimmün hastalıklar, enzim eksiklikleri, enfeksiyonlar, çevresel faktörler, radyasyon veya cerrahi ilişkili nedenler %10 oranında görülür. Birçok neden POY'a yol açabilirken, çoğu durumda etiyoloji belirlenemez. Gebelikte embriyogenezin erken döneminde foliküler göç kusuru, primordiyal foliküllerde erken bir tükenme, artan foliküler atrezi ve primordiyal foliküllerin olgunlaşma aşamalarında kusur gibi konular hala araştırılmaktadır. Radyasyon tedavisi, kemoterapi, overlere yapılan cerrahi, ooforektomi, ciddi enfeksiyonlar, bazı ajanlar (Tablo 1.) ve sigara diğer sebeplerindendir. POY nedenleri arasında over tümörleri, metabolizmada değişikliğe neden olan enzim kusurları veya otoimmün hastalıklar da yer alır. POY'un nadir bir özel formu, dirençli over sendromu olarak adlandırılır. Overler yeterli foliküle sahiptir ve tamamen işlevseldir, ancak bu sendromda FSH reseptörü kusurludur. Sonuç olarak, overler hipofiz bezinin komutlarını algılayamaz ve çalışmayı durdurur.

2.7.5.1. Genetik Nedenler

POY overlerde fonksiyonel folikül bulunmadığı ve normal sağlıklı overler yerine sadece bağ dokusu şeritlerinin bulunduğu, streak gonadlar olarak adlandırılan çeşitli doğuştan genetik bilgi defektlerinin bir parçası olarak ortaya çıkabilir. Bu bozukluklara gonadal disgenezi denir. Turner sendromu, POY ile ilgili en yaygın kromozomal anomalilerden biridir. X kromozomu üzerinde bulunan Frajil X Mental Retardasyon 1 (FMR1) premutasyonu ise en yaygın gen anomalisidir.

2.7.5.1.1. Turner Sendromu

Kadınlarda en sık rastlanılan X kromozomu anomalisidir. Yaklaşık 2500 yeni doğan kadından 1'ini etkiler ve bir X kromozomunun komple veya kısmen yokluğu ile karakterizedir. Etkilenen hastaların %43-49'unda X kromozomu (45X) için monozomik bir karyotip bulunurken, geri kalan vakalarda, genetik analizler mozaikliğin varlığını, normal karyotip hücrelerinin (46XX) ve değiştirilmiş karyotipli hücrelerin eşzamanlı varlığını gösterir. Bu hastaların klinik fenotipi son derece değişkendir, ancak tipik formu kısa boy, karakteristik bir yüz ve vücut morfolojisi, kardiyovasküler ve renal anomaliler, oküler ve işitme problemleri ile karakterizedir. Sonuç olarak seks steroidlerinin yokluğu, infertilite, erken menopoz veya POY ile azalmış over rezervine, gecikmiş veya başarısız pubertal gelişim ile birlikte streak overlerin gelişimine kadar farklı şiddet derecelerine sahiptir. Turner sendromlu hastalarının sadece %10-30'u spontan puberte başlangıcına sahiptir, sadece %5-10'u menarşa ulaşır ve düzenli menstrüel kanama görür, bu da bazı kızların östrojen salgılayan over foliküllerine sahip olduğunu düşündürür [43]. Tam klasik monozomi X'te ise, puberte öncesi tüm foliküllerin dejenerasyonu ve streak gonadların varlığı nedeniyle sıklıkla primer amenore gözlenir.

2.7.5.1.2. Frajil X Mental Retardasyon Premutasyonu

Primer over yetmezliğinin genetik arka planını araştıran çeşitli çalışmalarda, genetik bilgide POY ile ilişkili olabilecek farklı hastalıklar da keşfedilmiştir. Frajil X sendromu, zekâ geriliğinin en sık kalıtımsal nedeni olup X kromozomunun uzun kolu (Xq27.3) üzerinde bulunan FMR1 (Frajil X Mental Retardasyon) geninin bir trinükleotidindeki tekrar dizisinin (CGG) anormal artması sonucu gelişir. FMR1 geni normalde yaklaşık 30 veya daha az CGG tekrarı içerirken, Frajil X sendromu tanısı almış hastalarda bu

tekrarların sayısı 200'ü aşar. 55-200 trinükleotid tekrarı ile karakterize premutasyon olarak adlandırılan durumda ise, Frajil X sendromundan farklı iki bozukluk saptanmıştır. Birincisi, X'e bağlı bozukluklarda beklendiği gibi özellikle erkekleri etkileyen ve nörolojik bir bozukluk olan Frajil X bağlantılı tremor/ataksi sendromudur. İkincisi ise premutasyon taşıyıcısı kadınların yaklaşık %15'inde görülen POY'dur [44]. FMR1 premutasyonlarında artmış mRNA üretiminin toksik fonksiyon kazanımı sonucunda foliküler atrezi geliştiği düşünülmektedir. Ailevi POY olan kadınlarda premutasyon prevelansı yaklaşık %14'tür. Sporadik POY olgularında bu oran %1 ile %7 arasındadır. Bu yüzden POY tanılı kadınlara genetik danışmanlık önerilmelidir. FMR1 genine ek olarak, X kromozomunun kısa kolunda yer alan BMP15 geninde (Human Bone Morphogenetic Protein 15 geni) bir mutasyon, POY tanısı alan kadınların yaklaşık %4,7'sinde bulunmuştur [45]. BMP15 folikülogenez sırasında önemli görevleri olan bir proteindir. Ayrıca granüloza hücrelerinin FSH etkisine duyarlılığının düzenlenmesinden ve granüloza hücrelerin apoptozununun önlenmesinden sorumludur. Bunların yanı sıra taşıyıcıların POY'a yatkın olmasına neden olan başka genler de bilinmektedir. X kromozomunun uzun kolunda POF2 (DIAPH2) ve POF5 (AFF2), kromozom 2'nin kısa kolunda POF4 (LHCGR) ve POF6 (FSHR) ve kromozom 3'ün uzun kolunda bulunan POF3 (FOXL2) bunlardan bazılarıdır [46].

2.7.5.1.3. Galaktozemi

Galaktozemi, galaktoz-1-fosfat üridiltransferazın bozulmuş aktivitesinin neden olduğu, galaktoz ve toksik etkileri olan metabolitlerinin vücutta birikmesine yol açan, galaktoz metabolizmasında otozomal resesif kalıtım gösteren ender karşılaşılan bir genetik anomalidir. Yenidoğan taraması ve bunun sonucunda diyet tedavisi erken tanıyı mümkün kılıp bu bozukluktan kaynaklanan akut neonatal semptomları azaltmakta başarılı olmakta,

ancak yetişkinlikte uzun vadeli komplikasyonları ortadan kaldırmakta aynı başarıyı yakalayamamaktadır. Bunlar arasında büyüme geriliği, dil gelişiminde gecikme, azalmış kemik yoğunluğu, hareket bozuklukları ve kadınlarda over disfonksiyonu yer alır. Yapılan bir araştırma klasik galaktozemili kadınların, azalmış over rezervine karşılık gelen, FSH serum konsantrasyonlarının daha fazla olduğunu ve AMH konsantrasyonlarının azaldığını kanıtlamıştır [42]. Klinik belirtiler arasında primer veya sekonder amenore, oligomenore, pubertal gelişimin gecikmesi veya yokluğu ve infertilite sayılabilir.

2.7.5.1.4. BRCA 1 ve 2 Mutasyonları

BRCA 1 ve 2 genlerinin DNA bütünlüğünün korunmasında kritik bir rolü olduğu bilinmektedir. Bu genlerin mutasyonları hem DNA onarım mekanizmasını hem de telomer uzunluğunun korunmasını bozarak karsinojeneze yatkınlık yaratan DNA hasarlarının birikmesine yol açabilir [48]. Dolayısıyla BRCA1 ve BRCA2 mutasyonuna sahip kadınlar, meme ve over kanseri riski altındadır ve üreme çağında doğurganlığı doğrudan bozan gonadotoksik tedavi alma ihtimalleri yüksektir. Bu nedenle tedavi öncesi danışmanlık büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, sağlıklı taşıyıcılarda hem over hem de meme kanseri risklerini azaltmak için profilaktik bilateral salpingo-ooferektomi önerilmektedir.

2.7.5.1.5. Diğer Gen Mutasyonları

BPES, (blefarofimoz, ptozis, epikantus inversus) FOXL2 mutasyonunun neden olduğu bir sendromdur. Göz bulguları dışında POY yapmasıyla bilinir ve bu konu ile alakalı araştırmalar devam etmektedir [49].

Perrault sendromu sensörinöral sağırlık, nörolojik kusurlar ve over disfonksiyonu (genellikle primer amenore) ile birlikte azalmış over gelişimi ile karakterize otozomal resesif kalıtılan bir sendromdur [50].

Werner sendromu ve Bloom sendromu gibi erken yaşlanma sendromlarında, erken yaşlanmaya neden olan mutasyon overlerde, doğurganlığın azalmasıyla birlikte hızlandırılmış bir folikül kaybına neden olduğu düşünülmektedir [51,52].

St. Marianna Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Rose Ladies Kliniğinde görülen 688 spontan POY vakasının analizinde, vakaların 88'inde (%12,8) karyotip anomalileri görülmüştür [53].

2.7.5.2. Enfeksiyöz Nedenler

POY kabakulak, tüberküloz, varisella zoster, sitomegalovirüs ve herpes simpleks virüsü dahil olmak üzere sayısız farklı enfeksiyonla ilişkilendirilmiştir ancak enfeksiyonların çoğu için doğrudan nedensel bağlantılar kurulamamıştır. Genellikle geçici olmasına rağmen, kabakulak ooforitini takiben kadınların %2-8'inde over yetmezliğinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. HIV enfeksiyonunun azalmış over rezervinin belirteçleri ile ilişkili olabileceğini düşündüren yeni veriler yayımlanmıştır [54].

2.7.5.3. Otoimmünite

Otoimmün POY, otoimmün lenfositik ooforit ile sonuçlanan over, adrenal veya diğer steroidojenik hücre otoantikorları ile ilişkilidir. Hipotiroidizm, diabetes mellitus, sistemik lupus eritematozus, pernisiyöz anemi, vitiligo ve romatoid artrit dahil olmak üzere pek çok otoimmün bozukluk POY'a neden olabilir. Otoantikorlar en yaygın olarak Addison hastalığı ile birlikte, iki tip otoimmün poliendokrin sendromundan birinin (APS Tip 1 ve 2) bir parçası olarak ortaya çıkar. APS-1, AIRE genindeki mutasyondan kaynaklanan otozomal resesif kalıtılan bir hastalıktır ve esas olarak çocuklukta Addison hastalığı, kandidiyaz ve hipotiroidizm ile kendini gösterir. Vakaların %15'inde over yetmezliği görülür [55]. Bunların dışında resesif kalıtılan FSH Reseptör Mutasyonları (FSHR), LH Reseptör Mutasyonları (LHR), ve dominant geçiş gösteren FOXL2 (BPES'te yer alan transkripsiyon faktörü) mutasyonları da over yetmezliği nedenlerindendir [56].

2.7.5.4. İyatrojenik Nedenler

2.7.5.4.1. Kemoterapötik ajanlar

Kemoterapi ve radyoterapi tedavileri, POY'un kanıtlanmış iyatrojenik nedenlerindedir. Her ikisinin de over fonksiyonunu önemli ölçüde azalttığı bilinmektedir. Genel olarak, foliküler atrezi oranı doğrudan maruziyet düzeyi ile ilişkilidir. Kemoterapi, olgun foliküllerin apoptozunu indükler. Tedaviden sonra over dokusunun histolojik incelemesinde kortikal fibroz, vasküler hasar ve azalmış folikül sayıları gösterilmiştir. Tablo 1.de kemoterapötik ajanlar gonadotoksisite derecelerine göre listelenmiştir. Bir alkilleyici ajan olan siklofosfamidin çok yüksek gonadodoksik risk barındırdığını görmekteyiz. Deneylerde genellikle CTX'in tercih edilmesinin sebebi bu toksik etkisidir.

Yüksek Gonadal Toksisite	Orta Gonadal Toksisite	Düşük Gonadal Toksisite
Siklofosfamid	Sisplatin	Bleomisin
Busulfan	Adriamisin	Metotreksat
Klorambusil		Aktinomisin D
Prokarbazin		Vinkristin
Melfalan		5-Florourasil

Tablo 1. Gonadotoksisite Yapan İlaçlar [57]

2.7.5.4.2. Radyasyon

Overler, intrauterin 5. ayda zirveye ulaşan ve artan yaşla birlikte azalan sınırlı sayıda primordiyal oosit içerir. Bu düşüş, menopoz yaşına kadar devam eder ve oosit sayısı <1.000 olduğunda kadınların doğurganlık kapasitesi azalır [58]. Overler oldukça radyosensitif organlardır. Doğrudan radyasyon, over foliküllerinde atreziyi hızlandırır. Radyasyona karşı oldukça hassas olan overlerin fonksiyonunu pelvik koruma ile bile korumak zordur. 10 Gray'den (Gy) yüksek dozlar over yetmezliği, 20 Gy'nin üzerinde dozlar ise yüksek over yetmezliği riski ile ilişkilidir [59]. Radyasyon alanından uzakta, pelvis dışına overlerin cerrahi olarak transpozisyonu, radyasyon maruziyetini en aza indirmede etkilidir. Over transpozisyonu uygulanan kişilerde, daha sonra doğurganlığı sağlamak için genellikle yardımcı üreme teknolojisine ihtiyaç duyulmaktadır.

2.7.5.4.3. Cerrahi Operasyonlar

Bilateral ooferektomiye bağlı cerrahi menopoz dışında, uterusun cerrahi olarak çıkarılması bazı kadınlarda daha erken menopoza neden olabilir. Histerektomi veya uterin arter embolizasyonu sırasında over kan akımını bozacak istenmeyen hasarların oluşması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir [60].

2.7.6. Belirtiler

Semptomlar hastadan hastaya önemli ölçüde değişebilir, bulgular aniden ortaya çıkabildiği gibi birkaç yıl içinde yavaş yavaşta gelişebilir. Hipergonadotropik over yetmezliğinin en şiddetli formu, pubertal gelişmenin olmaması ve primer amenore ile karakterizedir. Klinik tablo menarş olmama ile karakterizeyken, pubertal gecikme, cinsel olgunlaşmanın olmaması ve büyüme hızının azalması ile sonuçlanır. Elde edilen veriler, cerrahi sonrası veya malignite tedavisi nedeniyle menopoza giren kadınların semptomatik olma ihtimalinin çok daha yüksek olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, 20 yaşından önce teşhis konan kadınların sıcak basması ve terleme, düşük ruh hali ve vajinal kuruluk semptomları yaşama olasılığı önemli ölçüde daha düşüktür. POY'un belirtileri ve komplikasyonları akut ve kronik olmak üzere iki gruba ayrılabilir. POY'un akut sonuçları genelde hızlı östrojen eksikliğinden kaynaklanır. Akut sonuçlar, sıcak basması ve gece terlemesi gibi vazomotor belirtiler veya düzensiz menstrüasyon/amenore, taşikardi ve baş ağrısı semptomlarını içerebilir. POY'un kronik riskleri infertilite, osteoporoz, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar ve erken ölüm riskinin artmasıdır. Disparoni, gece terlemeleri, göz kuruluğu ve cinsel istek azalması, menopoz veya östrojen eksikliği durumunda yaşananlara benzeyen tipik semptomlardır. POY tanılı kadınların %20 oranında kuru göz sendromu yaşama riskleri dikkat çekicidir [61].

Bunun yanı sıra birçok çalışma POY'lu kadınların ruh sağlığını ve yaşam kalitesini olumsuz etkilediği, özgüvenlerini yitirdikleri ve cinsel hayatlarında olumsuz etkiler yaşadıklarını göstermiştir [62].

Turner sendromu, POY'un en yaygın genetik nedenidir ve bu vakalar genellikle menarştan önce klinik olarak kendini belli ederler. POY teşhisi konulan kadınlar bazen kısa boy, perdeli boyun, kısa dördüncü ve beşinci metakarpal kemikler, düşük kulaklar ve düşük saç çizgisi gibi Turner sendromu belirtileri gösterir. Olağandışı özelliklere sahip ailesel sendromlar bazen

POY ile ilişkilidir. Bu tür belirtiler arasında cücelik, işitme kaybı ve göz kapağı tümörleri bulunur. Tiroid ve adrenal otoimmünite gibi bazı otoimmün hastalıkların klinik sonuçları da POY ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar arasında cilt pigmentasyon kaybı, bölgesel kellik, kandidiyazis ve tırnak distrofisi sayılabilir. Bu kadınlarda ayrıca ortostatik hipotansiyon, iştahsızlık, karın ağrısı gibi adrenal yetmezlik semptomları sayılabilir. Semptomlar arasında ödemli göz kapakları, guatr ve artmış veya azalmış kalp hızı gibi tiroid hastalığının belirtileri de olabilir. Atrofik vajinit, cinsel istekte azalma, dizüri gibi genitoüriner sistem şikayetleri hipoöstrojenizmin diğer belirtileri olarak karşımıza çıkabilir [63].

2.7.7. Kronik (Uzun Vadeli) Komplikasyonlar

POY'un uzun vadeli komplikasyonları arasında osteoporoz, nörolojik, metabolik veya kardiyovasküler bozukluklar, kognitif sorunlar ve infertilite sayılabilir. Ayrıca hiperkolesterolemi ve diabetus mellitus görülebilir. Yapılan çalışmalar POY tanısı alan kadınlarda doğal menopoz tanısı alan kadınlara göre Tip2 Diabetus mellitus geliştirme ihtimalinin daha olası olduğunu göstermiştir [64,65].

2.7.7.1. Kas İskelet Sistemi

Erken yaşta over fonksiyonunun kaybı, kemik yapısını etkilediğinden kas-iskelet sistemine ait şikayetler sık görülmektedir. POY tanısı alan kadınlar osteoporoz ve kırık riski altındadır ve kontrendike olmadıkça ortalama menopoz yaşına ulaşana kadar osteoporoza yönelik tedavi almalıdır. Sağlıklı bir yaşam tarzı teşvik edilmeli ve D vitamini takviyesi düşünülmelidir. 21.711 kadın üzerinde yapılan bir çalışma, 40 yaşından önce menopoza giren kadınların 50 yaşında veya daha ileri yaşta menopoza giren kadınlarla karşılaştırıldığında, daha yüksek kırık riskine sahip olduklarını bildirmiştir [66].

2.7.7.2. Kardiyovasküler Sistem

Menopozun ortaya çıktığı yaş ne kadar erken olursa, kalp sağlığı üzerinde uzun vadeli komplikasyon riski de o kadar artar. POY hastalarında kısalmış yaşam beklentisinin ana nedeni kardiyovasküler hastalıklardır ve bu tabloda endotelyal disfonksiyon, anormal lipid profili ve metabolik sendromun etkisinin büyük olduğu düşünülmektedir. Turner sendromlu hastalarda aort anevrizması da dahil olmak üzere ek riskler olduğundan düzenli takip oldukça önemlidir. Hu ve arkadaşları, Nurses Health Study'nin analizlerinde, POY

ile miyokard enfarktüsü arasında anlamlı bir ilişki bulunduğunu açıklamıştır. Danimarkada yapılan bir araştırmada ise erken menopoz ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişki incelenmiş olup, erken menopoz durumu yaşayan kadınlarda riskin iki kat arttığı gösterilmiştir. Farklı bir çalışmada, Lisabeth ve arkadaşları, sigara içmeyi de içeren, erken menopoza girmiş kadınların girmeyenlere kıyasla iki kat daha fazla iskemik inme riskine sahip olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgu, hiç sigara içmemiş kadınlarla sınırlandırıldığında da devam etti dolayısıyla iskemik inme riskinin sigaradan bağımsız arttığı tespit edilmiştir. Kardiyovasküler hastalık riskini azaltmada en önemli adım yaşam tarzı değişikliğidir. Sigaraya maruziyetin sınırlandırılmasının kardiyovasküler riski azalttığı gösterildiğinden, overlerin fonksiyonel durumundan bağımsız olarak sigara içen tüm kadınlara sigarayı bırakma konusunda danışmanlık yapılmalı ve yardım sağlanmalıdır. Kadınlarda kardiyovasküler hastalık riskinin azaltılmasında sigarayı bırakmanın yanı sıra kilo yönetimi, sağlıklı beslenme ve düzenli fiziksel aktivitenin de yararlı etkileri vardır [67,68,69].

2.7.7.3. Genitoüriner Sistem

Östrojen seviyesinin azalması ürogenital atrofiye yol açar. Atrofi zemininde vajinal kuruluk ve kaşıntı şikayetleri ortaya çıkmaktadır. POY hastaları arasında daha yüksek üriner inkontinans vakası bildiren hiçbir çalışma yoktur.

2.7.7.4. Kognitif ve Nörolojik Sistem

Normal menopoz yaşından önce overlerin işlevselliğini yitirmesi kognitif bozukluk riskini yaklaşık iki kat arttırır. Birçok bilimsel araştırmada menopoza giren kadınların uzun vadede Parkinsonizm, bilişsel bozukluk veya demans, depresyon ve anksiyete semptomları açısından artan bir riske sahip olduğunu göstermiştir [70].

2.7.7.5. İnfertilite

İnfertilite, herhangi bir doğum kontrol önlemi olmaksızın 1 yıldan fazla normal cinsel yaşamı olan kadının gebe kalamadığı ya da gebeliği sürdüremediği bir durumu ifade etmektedir. İnfertilite, sadece ailenin yaşam kalitesi ve mutluluğunu ciddi şekilde etkilemekle kalmayan, aynı zamanda üreme sağlığını ve diğer sorunları da içeren, küresel çapta bir tıbbi sorundur. POY'lu hastaların %50'ye varan oranda overlerin fonksiyonu aralıklı olarak geri dönebilir ve bu bazen ovulasyona ve spontan gebeliğe yol açabilir.

2.7.7.6. Morbidite ve Mortalite

Birçok çalışmada, POY tanılı kadınlarda 55 yaşından sonra menopoza giren kadınlara kıyasla mortalitenin arttığı ve yaşam beklentisinin 2 yıl daha az olduğu gösterilmiştir [71].

2.7.8. Tanı

POY'un gecikmiş teşhisi, hafif klinik semptomlara ve göreceli bir farkındalık eksikliğine bağlanabilir. Çoğunlukla menarştan sonra teşhis edilir, ancak menarştan önce ortaya çıkıyorsa gonadal disgeneziden ayırt edilmesi gerekir. Adet düzensizliği şikâyeti ile başvuran 40 yaş altı hastalarda yüksek FSH düzeylerinin görülmesi, POY'u düşündürür. Over yetmezliğinin hem primer hem sekonder tipleri, biyokimyasal olarak düşük seviyelerde gonadal hormonlar ile karakterizedir. FSH yükselmesi genellikle LH'den daha belirgindir ve >40 mIU/ml FSH değeri over yetmezliğinin göstergesidir. Tanı, dört ay veya daha uzun süredir amenore ve birer ay arayla iki yüksek FSH ölçümüne dayanır. Ön hipofiz, overlerin işlev bozukluğundan kaynaklanan düşük östrojen seviyelerini artırmaya çalışmak için yüksek seviyelerde FSH ve LH salgılar. Klinik değerlendirme sırasında, öncelikle gebelik ekarte edilmelidir. Sonrasında, TSH, Prolaktin (PRL), FSH, LH ve E2 parametrelerinin değerlendirmeleri yapılmalıdır. Pelvik ultrasonografi (USG), POY'dan şüphelenilen kadınlarda tanısal çalışmanın rutin bir parçası olarak kabul edilir. Overlerin hacmi küçüktür ve çok az antral folikül görülür veya hiç görülmez [72]. Hipoplastik overler (USG'de 0.20-0.30 ml) varlığında laparoskopi sırasında yapılan biyopsilerin histolojik incelemesi, primer foliküllerin varlığını ortaya çıkarabilir. Over kistlerinin bulunmasıyla bağlantılı POY formları, sekonder amenore ile kendini gösteren LH direncine (LHR mutasyonları) bağlı olabilir. Genel olarak POY'da bulunanın aksine, LH reseptöründeki kusurlar tipik olarak serum FSH'sinden daha belirgin bir serum LH yükselmesi (> 10 U/L) ile ilişkilidir. Over rezervini ayrıca inhibin B ve AMH ile tahmin etmek mümkündür. Düşük inhibin B seviyeleri, FSH artışından önce foliküler tükenmeyi öngörebilir. Karyotip değerlendirmesi ve diğer sitogenetik araştırmalar, majör X kromozom anomalilerini belirlemek için faydalıdır. Primer ve sekonder over yetmezliğinin ayrımında gonadotropin (LH ve FSH) ve GnRH düzeyleri değerlendirilebilir. Kandaki FSH ve LH

miktarı normalse veya önemli ölçüde azalmışsa bu sekonder over yetmezliği lehinedir. Kişilere GnRH verildikten sonra FSH ve LH seviyelerinin tekrar ölçüldüğü bir GnRH testi, hipotalamus ve hipofiz kaynaklı over yetmezliğini ayırt edebilir. Hipotalamus kaynaklı over yetmezliğinde GnRH verildikten sonra ikinci bir kan örneğinde kandaki FSH ve LH miktarı artarken, hipofiz kaynaklı over yetmezliğinde etkilenmez. Ayırıcı tanıda nörolojik hastalıkları ve kranial tümörleri ekarte etmek için BT veya MR kullanılabilir. DEXA gibi kemik yoğunluğu ölçümü, seks hormonlarının eksikliğinin kemiğin yapısını ne kadar etkilediğini belirlemek için kullanılabilir. POY nedeni gonadal disgenezi ise, gonadal disgeneziye başka malformasyonlar da eşlik edebileceğinden kardiyovasküler sistem, ürogenital sistem, iskelet sistemi, görsel ve işitsel fonksiyonlar da incelenmelidir. Üreme endokrinolojisi alanındaki son gelişmelere rağmen, over disfonksiyonunun altında yatan çeşitli mekanizmalar belirsizliğini koruyor. Bu nedenle, POY histolojisini ve olası nedenlerini incelemek için fare modelleriyle birlikte moleküler çalışmaların önemi büyüktür.

- **Detaylı anamnez**
  Özellikle aile öyküsü ve erken menopoz açısından
- **Hormon profili**
  FSH, LH ve Estradiol
  Tiroid fonksiyonları ve PRL değerlendirmesi
- **Otoimmünite değerlendirmesi**
  Tiroid otoantikorları, Adrenal bez ve Over antikorları
- **Karyotip ve Genetik Analiz**
  Özellikle <30 yaş aile öyküsü olanlarda
- **Ultrasonografi**
  Antral folikül sayımı, Over hacmin ölçümü
- **Kemik ölçümü**
- **AMH ve/veya İnhibin B ölçümü**
  Over rezervini değerlendirmek için

Şekil 11. Over Yetmezliğinin Tanısında Önemli Değerlendirmeler [73]

2.7.9. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanı, diğer primer ve sekonder amenore nedenlerinin ekartasyonuna dayanır. Amenore ile başvuran hastada gebelik ekarte edilmelidir. Amenorenin sık görüldüğü polikistik over sendromu (PKOS) ekartasyonu için laboratuvar ve USG değerlendirmeleri birlikte yapılmalıdır. LH/FSH oranının >3/1 olması, hiperprolaktinemi, hiperandrojenemi tespit edilmesi ve ayrıca USG değerlendirmesinde overlerin tipik polikistik görüntüsü tanı koymak için yardımcı olacaktır [74]. Kemoterapötik ve antidopaminerjik ilaçlar, radyoterapi ve over cerrahisi gibi iyatrojenik nedenler doğru anamnez ile tespit edilebilir. Hipertiroidizm, hipotiroidizm, Cushing sendromu gibi endokrin bozuklukların ayrımında tam klinik/biyokimyasal değerlendirmeler yapılmalıdır. Rokitanski sendromu veya Asherman sendromu gibi vajinal/uterus anatomik malformasyonlarında fizik muayene, pelvik USG ayırıcı tanıda kullanılır. Ayrıca POY'dan farklı olarak gonadotropin seviyeleri normaldir. Genetik hastalıkların ekartasyonu için detaylı kromozomal analizler ve gerekirse genetik danışmanlık desteği istenebilir. POY'daki over morfolojisi ve histolojisi, gonadal disgenezidekilerden ayırt edilebilir. Gonadal disgenezideki foliküller, embriyogenez sırasında veya doğum sonrası ilk birkaç yıl içinde tükenir. Overlerde sadece fibröz çizgiler olarak görünen stroma bulunur. Öte yandan, POY'lu kadınların overleri, yüksek doz gonadotropinlere dirençli olmalarına rağmen folikül içerebilir. POY'daki over histolojisi, folikül koşullarının ve over rezervinin değerlendirilmesinde değerli bir yöntemdir. Bu durumdaki morfolojik değişiklikleri incelemek, foliküler rezerv bozukluğunun ve büyümesinin kapsamını anlamaya, POY tipini tanımlamaya ve gerçek etiyolojiyi belirlemeye yardımcı olabilir. Bütün bu tanı yöntemlerin dışında ayrıca ışık ve transmisyon elektron mikroskobundan da yararlanılabilir. Sonuç olarak doğru anamnez ve muayene ile amenorenin diğer nedenleri ekarte edilebilir.

2.7.10. Tedavi

Ailesel POY'un erken teşhisi, erken menopoz olasılığını tahmin etme fırsatı sağlayacak ve embriyoları dondurmak veya daha erken çocuk sahibi olmak gibi diğer üreme seçimlerinin yapılmasına izin verecektir. POY'un zaman içinde kümülatif olumsuz etkileri olduğundan, klinisyenlerin zamanında tanı koyması ve semptom yönetimi, duygusal destek ve risk azaltma için uygun stratejilere başlaması önemlidir. POY'lu kadınlar ideal olarak multidisipliner bir yaklaşım ile yönetilmelidir. Mevcut kılavuzlar, tüm seçenekleri sunmayı amaçlayan, tedavi başlamadan önce hastalar ile fertilite koruyucu yöntemler hakkında değerlendirmeleri önermektedir.

2.7.10.1. Hormon Replasman Tedavisi

Primer over yetmezliği 40 yaşından önce ortaya çıkarsa, etkilenen tüm bireylere, doğal menopozun meydana geleceği 50 yaşına kadar herhangi bir kontraendikasyon yok ise HRT yapılması önerilmektedir. Önde gelen hormon replasman rejimi, transdermal patch veya vajinal ring yoluyla günlük E2 uygulamasını içerir. Bu yaklaşımla, oral östrojen tedavisinin yol açtığı karaciğer üzerindeki ilk geçiş etkisinden kaçınarak pulmoner emboli ve derin ven trombozu riski önemli ölçüde daha az olur. Transdermal E2 yaması etken maddenin bolus yerine sabit hızda etki etmesini sağlar. Fizyolojik östrojen seviyeleri, günde 0.100 mg E2 salınım gerçekleştiren transdermal patch ve vajinal ring, günlük 1-2 mg oral alınan mikronize E2 veya günlük 0.625-1.25 mg konjuge östrojenler ile elde edilebilir. Endometrium ve meme kanserinin gelişmesini engellemek için E2 replasmanı alan genç kadınların tedavilerini ayrıca bir progestin ile tamamlamaları gerekir [75]. Hormonal tedaviye rağmen menstrüasyonda düzensizlik ve gecikme görülürse gebelik testi yaptırmak önemlidir. Meme ve over kanseri

öyküsü olan kadınlarda, emziren annelerde (yenidoğan sarılığına ve yenidoğan meme büyümesine neden olabileceğinden) ve 50 yaşını doldurmuş hastalarda HRT kullanımı önerilmemektedir. POY hastaları, hormon tedavilerinin postmenopozal hormon tedavisinden farklı olduğunu anlamaları konusunda eğitilmelidir. HRT'lerin potansiyel riskleri ve faydaları bu iki popülasyonda farklıdır. POY hastaları genellikle postmenopozal kadınlardan daha genç olduğundan, endometrium, over ve meme kanseri riskleri önemli ölçüde daha düşüktür. Östrojen/progestin tedavisinin kullanımıyla birçok hastalığın riskinin arttığı tahmin edilirken, diğer yandan yapılan çalışmalardan bazıları normal menopoz yaşına kadar östrojen tedavisinin, POY'lu hastalarda kardiyovasküler hastalıktan dolayı ölümleri azalttığını ve kemik mineral yoğunluğunu arttırdığını öne sürmüştür [76]. Farklı bir çalışmada artan HRT dozları, genç hipogonadal kadınlarda karotis-intima media tabakası kalınlığında azalma, serum HDL seviyelerinde artış ve plazma glukoz seviyesinde azalma ile sonuçlanmıştır, dolayısıyla bu çalışma, ekzojen östrojenin genç kadınlarda kardiyoprotektif olabileceği olasılığını gündeme getirmektedir [77].

Ayrıca dehidroepiandrosteron (DHEA) takviyesinin olumlu etkileri de bildirilmiştir. POY'lu infertil kadınlarda DHEA verilmesinin hamile kalma şansını arttırdığı, düşük riskini azalttığı ve IVF tedavisini daha başarılı kıldığı gösterilmiştir.

Hastaya uygun görülen tedavi ve riskler ayrıntılı bir şekilde anlatılmalıdır ve bununla birlikte, sürekli değerlendirme ve tıbbi tedavi yoluyla hipogonadizm sekellerini en aza indirmek önemlidir. Over rezerv korunmasının ve infertilitenin önlenmesinın kadın üreme sağlığı için önemi oldukça büyüktür. Hormonal yöntemler, kemoterapinin gonadotoksisitesini azaltmak için önemli bir strateji sunabilse de hala çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.7.10.2. Plateletten Zengin Plazma

Yüksek miktarlarda trombosit içeren kanın bir plazma fraksiyonu olan trombositten zengin plazma (PRP), son on yılda tıpta kullanılmaya başlanmıştır. Plazma, anjiyogenez rejenerasyonunu ve hücre proliferasyon sürecini geliştirebildiği öne sürülen geniş bir büyüme faktörü spektrumu içerir. Bu büyüme faktörlerinin folikülogenezi modüle etmede önemli roller oynadığı bilinmektedir [78]. Pek çok vaka raporu POY tanısı alan ve doğurganlık açısından kötü prognozlu infertil hastalarda iyi sonuçlar göstermiştir [79]. 2018 de Dehghani ve arkadaşları'nın yaptığı bir çalışmada PRP enjeksiyonunun sağlıklı primer ve antral folikül sayısını artırdığı tespit edilmiştir [80]. Farklı bir çalışmada PRP tedavisinden altı hafta sonra, erken menopoz hastalarında serum FSH düzeylerinde önemli bir düşüşün kaydedildiği görülmüştür [81]. Özet olarak PRP'nin POY tanılı kadınların overlerinde fonksiyonları kısmen geri döndürebileceğini, morfolojik olarak normal folikülleri ovotoksik kimyasalların neden olduğu dejenerasyon ve atreziden koruyabileceğini ve anjiyogenezi uyardığını düşünmekteyiz. Ayrıca, PRP doku gençleştirme, histopatolojik hasarları en aza indirme ve antiinflamatuar etkinliği nedeniyle iyi bir tedavi seçeneğidir.

2.7.10.3. Kök Hücre Transferi

Kök hücre tedavileri, geniş bir hastalık yelpazesi için umut verici görünmektedir ve hastalar için önemli faydalar sağlaması beklenmektedir. Umblikal kord mezenkimal kök hücreler, kendini yenileme yeteneğine sahip heterojen multipotent hücrelerdir. Bazı çalışmalar, mezenkimal kök hücrelerin transplantasyonunun kemirgen modellerinde over fonksiyonunu düzeltebileceğini ve doğurganlığı iyileştirebileceğini göstermiştir [82].

2020 de yayınlanan bir çalışmada, mezenkimal kök hücrelerin POY hastalarının overlerine nakledildiğinde, uzun süreli takip sonrasında over fonksiyonlarında iyileşme ve oosit

olgunlaşmasını sağlamada etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca İVF ve embriyo transferinden sonra, kök hücre nakli sonrası 4 hasta başarılı bir şekilde gebe kalmış ve sağlıklı bir şekilde bebeklerini kucağına almışlardır [83]. Bu bulgular ışığında, mezenkimal kök hücre transplantasyonu POY tedavisi için gelecek vadeden bir yaklaşımı temsil edebilir.

2.7.10.4. Psikolojik Destek

Primer over yetmezliği büyük bir psikolojik yükü temsil eder. Bu yükle başa çıkmak için çeşitli önlemler yardımcı olabilir. Her durumda, etkilenen kadınlara teşhisleri, önemi ve mevcut tedavi seçenekleri hakkında yeterli bilgi sağlamak çok önemlidir. Hastalık ve tedavi ile ilgili bilgi verildiğinde, etkilenenlerin yanı sıra, hastanın da rızası ile, yakınları, özellikle hayat arkadaşları da yer almalıdır. Ayrıca, tedavi eden hekimler, hastalık ve sonuçları hakkında bilgi ve tartışma için yeterli zaman planlamalıdır. Bazı durumlarda psikoterapötik destek de gerekli olabilir.

Son zamanlarda, melatonin takviyesinin POY'a bağlı depresyonu önlemenin yanı sıra doğurganlığı ve menstrüasyonu düzenlemek için de faydalı olduğu düşünülmektedir [84].

2.7.10.5. Genetik Danışmanlık

Genetik danışma, günümüzde, POY'un genetik bir formundan şüphelenildiğinde veya tanımlandığında önerilmektedir. Frajil X sendromu olan ailelerden gelen POY vakalarında danışmanlık özellikle önemlidir. Etkilenen aileler üzerinde yapılan soyağacı çalışmaları, otozomal dominant ile X'e bağlı kalıtımı düşündüren bir kalıtım biçimi gösterdi. Otozomal dominant kalıtımda, anneden veya babadan kalıtılan POY riski %50'dir. Babadan X'e bağlı kalıtım ile bu risk %100'e kadar çıkmaktadır [85]. 30 yaşından önce POY yaşayan tüm

kadınlar, kromozomal değerlendirme için taranmalıdır. Bazı durumlarda, genetik araştırma ile erken teşhis, erken gebelik veya oosit toplanması ve korunması için faydalı olabilir. POY'un genetik kökenini tanımak, hastalar ve aileleri için fayda sağlayabilir. Aile üyelerinin taranması, genetik neden tam olarak belirlendiğinde gerçekleştirilebilir, böylece oositlerin dondurularak saklanması gereksinimini azaltmak ve gelecekteki doğurganlık potansiyelini artırmak için HRT ile zamanında müdahaleyi kolaylaştırır. Bu anlayış aynı zamanda daha iyi hasta rehberliği sağlayacak ve yönetimini de kolaylaştıracaktır.

Swyer sendromunda olduğu gibi primer over yetmezliğinin nedeni, erkek karyotipli, yani X ve Y kromozomlu gonadal disgenezi ise, gonadlar cerrahi olarak çıkarılmalıdır, çünkü bu hastalarda doku dejenerasyonu ve malignite riski artmıştır. Hastalar, HRT'ye başlamadan önce, over yetmezliği ve menopozun aynı olmadığı konusunda bilgilendirilmelidir. HRT'ye ek olarak, etkilenenler, iskelet sistemini stabilize etmek için diyet takviyeleri şeklinde yeterli kalsiyum ve D vitamini almalıdır. Etkilenenlere iskelet sistemini güçlendirmek ve kardiyovasküler sistem sağlığı için düzenli fiziksel aktivite de önerilir. POY tanılı kadınlarda, sigaradan uzak durmayı, düzenli egzersiz yapmayı ve sağlıklı bir kiloya sahip olmayı önermek kalp hastalıkları risk faktörlerini azaltma konusunda farkındalığı arttırmaktadır. Oositlerin, over dokularının ve embriyoların dondurularak saklanması gibi fertiliteyi koruma stratejileri uygun alternatiflerdir. Over fonksiyonunu korumaya yönelik mevcut girişimler, esas olarak, over dokusunun kriyoprezervasyonu ve yeniden implantasyonu gibi tüm merkezlerde kolayca bulunamayan invaziv prosedürlere dayanmaktadır. Over kriyoprezervasyonu, hormona duyarlı maligniteleri olan ve aplastik anemi, orak hücreli anemi ve talasemi majör nedeniyle hematopoietik kök hücre nakli yapılacak olan kadınlar için iyi bir seçenek olabilir. Ayrıca, dominant foliküllerin in vitro aktivasyonu (IVA) olarak bilinen yeni bir yaklaşım, infertilite tedavisinde önem kazanmıştır. IVA, Hippo sinyal yolunu bozar ve

POY'lu hastalarda dominant primordial folikülleri aktive etmek için fosfatidilinositol-3-kinazı (PI3K) uyarır [86,87,88,89].

POY'lu hastalar, yukarıda gösterildiği gibi, belirli morbidite ve mortalite riskinde artışa sahiptir. Kemik mineral yoğunluğunun azalması ve osteoporoz riski, yaşam tarzı müdahaleleri, yeterli kalsiyum ve D vitamini alımı ve HRT ile en aza indirilmelidir. Cinsel işlev bozukluğu, seçilmiş vakalarda uygun danışmanlık, östrojen replasmanı ve androjen takviyesi ile yönetilmelidir. Vajinal atrofi, topikal östrojenler ve kayganlaştırıcıların kullanımıyla iyileştirilebilir. Özet olarak POY tedavisinde foliküllerin, embriyoların ve doku örneklerinin saklanması yoluyla doğurganlığın korunması standart bakım haline gelmiş olsa da hastaların yaşam beklentisi, kalitesi, cinsel ve genitoüriner sistem sağlığı, nörolojik sağlığı, kemik sağlığı, kardiyovasküler sağlığı dahil olmak üzere tüm vücut sağlığını korumak için multidisipliner yaklaşım gerekmektedir. Bu komorbiditelerin her birinin gözetimi ve yönetimi, hastaların sağlığı için kritik öneme sahiptir.

2.8. Sekonder Over Yetmezliği

Sekonder ovaryan yetmezliğine hipogonadotropik hipogonadizm de denir ve bu yetmezlikte overler tamamen işlevseldir. Hipofiz bezi veya hipotalamustaki bir disfonksiyon gibi vücuttaki başka bir organ veya dokudaki bir kusur sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Overler sekonder ovaryan yetmezlikte hormon üretmek ve folikül olgunlaşması için hipotalamus ve hipofiz bezi tarafından yeterince uyarılmadığından hipogonadotropiktir. Böylece overler artık görevlerini yerine getiremez ve hipogonadizm tablosu gelişir. Sekonder ovaryan yetmezliği hipotalamus kaynaklı over yetmezliği, hipofiz kaynaklı over yetmezliği ve hiperandrojenemik over yetmezliği olmak üzere 3 gruba ayrılır [90].

2.8.1. Hipotalamus Kaynaklı Over Yetmezliği

Hipotalamus kaynaklı over yetmezliğinde hipotalamusta bir bozukluk meydana gelmiştir. Hipotalamus, normalde kandaki seks hormonlarının miktarını sürekli olarak ölçer ve miktarın çok düşük, yeterli veya yüksek olmasına bağlı olarak, değişken dozda GnRH hormonu üretir. Üretilen GnRH 90 dakikalık aralıklarla pulsatil olarak salgılanır ve bu sayede hipofiz bezi gonadotropin salgılaması için uyarılır. Hipotalamus herhangi bir sorundan dolayı artık kandaki seks hormonu miktarını ölçemiyorsa, yeterince GnRH üretemiyorsa, hipotalamusun GnRH salgılama ritmi bozulursa veya hipotalamo-hipofizer aksta herhangi bir aksaklık gelişirse hipofiz bezi gonadotropin salgılayamaz ve dolayısıyla overlerin seks hormon üretimi bozulur. Sonuç olarak, overler tamamen işlevsel, yeterli foliküle sahip olmasına rağmen çalışamaz ve hipotalamus kaynaklı sekonder over yetmezliği gelişir [91].

Hipotalamus kaynaklı over yetmezliğinin olası nedenleri psikolojik stres, anoreksiya nervoza veya bulimia gibi önemli kilo kaybı olan yeme bozuklukları, yetersiz beslenme ve bazı ajanların kullanımıdır. Tüm bu nedenler hipotalamusta GnRH'nin üretimini ve ritmik salınımını bozar. Bununla birlikte, kraniyofarenjiyom, nörolojik yaralanmalar, tümörler, bazı enfeksiyonlar, sarkoidoz gibi infiltratif ve granülomatöz hastalıklar, radyasyon veya hipotalamus bölgesine yapılan cerrahiler hipotalamus kaynaklı over yetmezliğine neden olabilir. Hipotalamus kaynaklı over yetmezliğinin nadir bir nedeni, olfaktogenital sendrom olarak da adlandırılan Kallmann sendromudur. Bu sendrom anosmi veya hiposminin eşlik ettiği GnRH'ın doğumsal bozuklukların saptandığı 'hipogonadotropik hipogonadizm'in bir formudur [92].

Hipotalamus kaynaklı over yetmezliği tedavisi, nedenine bağlıdır. Yetmezlikten bir tümör sorumluysa, tümör cerrahi, radyasyon ve/veya kemoterapi ile tedavi edilmelidir. Hipotalamus kaynaklı over yetmezliğinden stres, yeme bozuklukları veya diğer psikolojik stresler sorumluysa, tedaviye ek olarak psikoterapötik tedavi de dahil edilmelidir.

2.8.2. Hipofiz Kaynaklı Over Yetmezliği

Hipofiz kaynaklı over yetmezliği durumunda hipofiz bezinin fonksiyonunda sorun vardır. Normalde hipotalamustan GnRH sagılanır ve hipofiz bu talimatı algılayıp overleri seks hormonları üretmek için FSH ve LH aracılığıyla uyarır. Hipofiz bezi hipotalamustan gelen talimatı algılayamaz, yeterince gonadotropin salgılayamaz ise overler tamamen normal ve işlevsel olmasına ve yeterli foliküle sahip olmasına rağmen çalışmayı durdurur ve hipofiz kaynaklı over yetmezliği gelişir [90].

Hipofiz kaynaklı over yetmezliğinin olası nedenleri, hipofiz bezinin dokusuna artık yeterli gonadotropin üretemeyecek kadar zarar veren enfeksiyonlar, kraniyofarenjiyom gibi bazı tümörler ve hipofiz bezi bölgesindeki yaralanmalardır. PRL, adrenokortikotropin (ACTH) ve büyüme hormonu (GH) üreten hipofiz bezinin iyi huylu tümörleri, intrapartum veya postpartum kanama ve hipovolemiye bağlı gelişen Sheehan sendromu veya hipofiz bezinin ön lobunun yetersizliğine ve dolayısıyla LH ve FSH gonadotropinlerinin yetersiz üretimi ile karakterize Laurence-Moon-Biedl-Bardet sendromu da hipofiz kaynaklı over yetmezliğine neden olabilir [90].

Hipotalamus kaynaklı over yetmezliğinde olduğu gibi, hipofiz kaynaklı over yetmezliğinde de nedenine bağlı olarak ek belirtiler ortaya çıkabilir. Bu nedenle hiperprolaktinemi nedenli galaktore şikâyeti olabileceği gibi, cinsel istek ve kemik stabilitesinde azalma da semptomlar arasındadır. Hipofiz bezindeki tümörler, yaralanmalar ve enfeksiyonlar baş ağrısına ve görme sorunlarına neden olabilir. Laurence-Moon-Biedl-Bardet sendromunda, etkilenenlerde ayrıca zekâ geriliği, obezite, pigmenter retinopati ve polidaktili görülebilir.

Hipofiz kaynaklı over yetmezliği tedavisi de nedenine bağlıdır. Hipofiz kaynaklı over yetmezliğinden hiperprolaktinemi sorumluysa, bu düzeltilmelidir. Prolaktinoma durumunda,

PRL inhibitörleri olarak da bilinen dopamin agonistleri tercih edilebilir veya tümör hızla büyüyorsa, ilaca karşı tolerans veya nörolojik defisit gelişme riski varsa cerrahi planlanabilir. Dopamin agonistleri arasında bromokriptin, kabergolin ve kuinagolid bulunur. PRL fazlalığından ilaçlar sorumluysa, bunlar azaltılmalı, kesilmeli veya mümkünse yan etkileri daha az olan ilaçlar ile değiştirilmelidir. Hipofiz kaynaklı over yetmezliğinden tümörler veya enfeksiyonlar sorumluysa, tümör cerrahi, radyasyon ve/veya kemoterapi ile, enfeksiyon ise medikal tedavi ile düzeltilmelidir.

2.8.3. Hiperandrogenemik Over Yetmezliği

Hiperandrogenemik over yetmezliği üç hastalığı içerir. Bunlar polikistik over sendromu (PKOS), over hipertekozisi ve adrenogenital sendromdur (AGS) [93].

Her üç hastalıkta da menstrüel döngüdeki düzensizlikler ve androjenlerin (testosteron, androstenedion, dehidroepiandrosteron (DHEA) ve dehidroepiandrosteron sülfat (DHEAS)) aşırı üretimine bağlı olarak menstrüasyon kanamasının olmaması, olmamasına ek olarak farklı derecelerde virilizasyon semptomları veya akne artışı gibi başka semptomlar görülür. Virilizasyon belirtileri arasında hirsutizm, düşük ses perdesi, klitoral hipertrofi, saç dökülmesi, artan kas kütlesi nedeniyle erkek vücut oranları ve/veya kadın meme regresyonu yer alır.

Tedavide, hiperandrogenemik over yetmezliğine neden olan hastalığın tanısını koyup nedenine yönelik tedavi seçenekleri düşünülmelidir. Obezite ile birlikte polikistik over sendromu durumunda, diyet değişikliği ve artan fiziksel aktivite yoluyla vücut ağırlığındaki azalma, genellikle düzenli menstrüasyon döngülerine ve çocuk sahibi olma arzusunun yerine getirilmesini sağlar. Bu yeterli olmazsa androjenleri etkisiz hale getiren ilaçlar kullanılabilir. Bunlar, belirli oral kontraseptifler içinde bulunan antiandrojenik maddeler olan klormadinon asetat veya siproteron asetattır. Patolojik insülin direnci varlığında metformin gibi antidiyabetik ilaçların kullanımı da mümkündür. Tüm bu önlemler çocuk sahibi olma isteğini yerine getirmek için yeterli değilse, İVF ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) düşünülebilir. Hiperandrojenemik over yetmezliğinin nedeni, örneğin bir adrenogenital sendrom ise, glukokortikoidler veya adrenal kortekste aldosteron üretiminde bir bozukluk varsa, ayrıca androjenlerin aşırı üretimini engelleyen mineralokortikoidler tedavi seçenekleri olarak düşünülmelidir. Hipertekoz overlerin tedavisi oldukça zordur. Hipotalamusun overleri

uyarmak için salgıladığı GnRH hormon analogları uygulanarak, kandaki testosteron ve androstenedion miktarı önemli ölçüde azaltılabilir.

Sekonder over yetmezliğinin nedeni tamamen ortadan kaldırılıncaya kadar veya uzun vadede over yetmezliğinin nedeni tam olarak tedavi edilemiyorsa etkilenen hastanın şikayetleri replasman tedavisi ile düzeltilmelidir.

2.9. Anjiotensin Reseptör Blokerleri

Anjiotensin resepöter blokerleri (ARB) renin-anjiotensin sistemini inhibe eden ajanlardır. Anjiotensin reseptör tip II antagonisti olarakta bilinen bu ilaçlar hipertansiyon, böbrek hastalığı ve kalp yetmezliği gibi hastalıkların tedavisinde tercih edilir. Anjiotensin reseptörünün aktivasyonu, belirgin vazokonstrüksiyona, norepinefrin salınımına, kan damarlarının norepinefrine duyarlılığında artışa, sempatik aktivasyona, aldosteron salgılanmasına ve vasküler hipertrofiye yol açar. Anjiotensin II reseptör blokerleri anjiyotensin II'nin reseptöre bağlanmasını engelleyerek etkisini bloke eden ilaçlardır. Sonuç olarak vazodilatasyon gerçekleşir ve hipertansiyon tablosu düzelir. Hipertansiyon veya diyabetin neden olduğu böbrek hastalığının da ilerlemesini önler [94].

2.9.1. Kandesartan

Kandesartan, bir ARB'dir ve reseptör afinitesinin yüksek, reseptöre bağlanma süresinin uzun oluşuyla bilinir dolayısıyla uzun etki süresine sahiptir. Kandesartan çok az bir miktar dışkı ile, çoğunlukla ise idrarla vücuttan uzaklaştırılır. Etkinliği doza bağımlıdır ve tolerabilitesi plaseboya benzerdir. Monoterapide ve diüretiklerle kombine olarak kullanılabilmektedir. Ön ilaç olan kandesartan sileksetil'in absorpsiyonu sırasında gastrointestinal sistemde hidrolize uğrayarak aktif formuna dönüşür. FDA, yetişkinlerde hipertansiyon tedavisi için kandesartanı 1998 yılında, bir yaş üzeri çocuk ve ergenlerde ise 2009 yılında onaylamıştır [95]. Kandesartan, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemine (RAAS) müdahale eder. Renin, renal perfüzyon basıncının azalmasına, sempatik tonusun artmasına ve nefronun distal tübülündeki makula densa hücrelerine sodyum klorürün azalmasına yanıt olarak renal jukstaglomerüler

hücreler tarafından salgılanır. Karaciğer tarafından salınan anjiyotensinojen, renin aracılığıyla anjiyotensin I'e dönüşür. Anjiyotensin I, anjiyotensin dönüştürücü enzimin (ACE) sayesinde anjiyotensin II'ye dönüştürülür. Anjiyotensin II'nin etkileri:

- Vasküler düz kasta anjiyotensin II reseptörü tip 1'e bağlanarak vazokonstrüksiyona ve kan basıncının artmasına neden olur.
- Nefronun proksimal tübülündeki sodyum-proton kotransporterinin aktivitesini arttırarak sodyum, su ve bikarbonatın yeniden emilimine neden olur.
- Adrenal korteksin zona glomerulozasından aldosteron salgılanmasını uyarır. Aldosteron su tutulmasına, intravasküler hacmin ve kan basıncının artmasına neden olur.
- Aquaporin-2 kanalları yoluyla su emilimini artırmak için arka hipofiz bezinden antidiüretik hormon salınımını uyararak intravasküler hacmi yükseltir ve kan basıncını arttırır.

Kandesartan, anjiyotensin II reseptörü tip 1'i antagonize ederek çalışır. Bu aktivite, anjiyotensin II'nin yukarıda bahsedilen etkilerini bloke eder ve kan basıncında ve sıvı tutulmasında bir azalmaya yol açar. Özetlemek gerekirse, kandesartan, sol ventrikül sistolik disfonksiyonu olan hastalarda kardiyovasküler mortaliteyi, genel mortaliteyi ve kalp yetmezliği nedeniyle hastaneye yatışları önemli ölçüde düşürür. Kandesartanın %70-80'i değişmemiş ilaç olarak ve %20-30'u inaktif bir metabolite metabolize olur ve neredeyse tamamı idrar ve dışkıda elimine edilir.

2.9.2. Valsartan

Valsartan, ARB'ler sınıfına ait, anjiyotensin reseptör neprilisin inhibitörü (ARNI) adı verilen bir antihipertansiftir. İlk olarak 1996 yılında yetişkinlerde hipertansiyon tedavisi için Avrupa'da onaylanmıştır. Kısa bir süre sonra, 1997'de bu ilaç Amerika Birleşik Devletleri'nde onaylandı. Valsartan, hipertansiyonu tedavi etmek ve miyokard enfarktüsünden sonra kardiyovasküler mortaliteyi azaltmak için tek başına veya diğer ilaçlar ile birlikte kullanılan bir anjiyotensin II reseptör blokeridir. Sacubitril/valsartan bir kombinasyon ürünüdür. Natriüretik peptitlerin arttırılmasının antioksidan, antiinflamatuar özellikleri ve ayrıca antifibrotik etkisi sayesinde kardiyovasküler hastalıklarda birçok faydalı ve iyileştirici etkisi kanıtlanmıştır [96]. Ek olarak, son çalışmalar beyin natriüretik peptitlerinin (BNP) oksidatif stresin inhibisyonu yoluyla hedef organ hasarına karşı önemli bir koruma sağlayabileceğini göstermiştir [97]. Genel olarak, valsartan'ın fizyolojik etkileri kan basıncının, aldosteron düzeylerinin düşmesine, kardiyak aktivitenin azalmasına ve sodyum atılımının artmasına neden olur. Valsartan ayrıca renin-anjiyotensin aldosteron sistemini (RAAS) etkiler. Özellikle kalp yetmezliği, RAAS'ın kronik aktivasyonu ile ilişkilidir, bu da uygun olmayan sıvı tutulmasına, vazokonstrüksiyona ve nihayetinde sol ventrikül fonksiyonunda daha fazla düşüşe yol açar. ARB'lerin kalp fonksiyonunu iyileştirerek, kalp debisini artırarak ve ventriküler hipertrofiyi önleyerek kardiyoprotektif bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir.

2.9.3. **Telmisartan**

Telmisartan, renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin birincil efektörü olan AII'nin oldukça seçici, rekabetçi, peptit olmayan bir AT1 reseptör antagonistidir. Klinik çalışmalardan ve klinik uygulama ortamından elde edilen kapsamlı kanıtlar, telmisartanın monoterapi veya diğer antihipertansif ajanlarla kombinasyon halinde kullanılmasının uzun süreli antihipertansif etkinlik sağladığını ve yaşlı hastalar dahil geniş bir hipertansif hasta yelpazesinde iyi tolere edildiğini göstermektedir. 24 saatlik dozaj aralığının tamamı boyunca sabit antihipertansif etkinlik ve uzun vadede kalıcı kan basıncını düşürme etkisi, olumlu tolere edilebilirlik profili ile birleştiğinde, telmisartan'ın esansiyel hipertansiyon tedavisi için değerli bir seçenek olduğu kanısına varılmıştır [98]. İlacın anjiotensin II tip 2 veya diğer reseptörlere afinitesi yoktur. İlacın mutlak biyoyararlanımı doza bağlıdır ve gıda alımı ile biyoyararlanımı az da olsa azalmaktadır. Oral veya intravenöz uygulamayı takiben telmisartan, büyük ölçüde değişmeden safra üzerinden feçesle atılır.

İlaç	Biyoyararlanım	Gıda alımı ile etki değişimi	Yarılanma ömrü	Eliminasyon
Kandesartan	%42	Ø	3-4 saat	%33 böbrek %67 karaciğer
Valsartan	%25	Etkisi azalır	9 saat	%13 böbrek %83 karaciğer
Telmisartan	%43	Ø	24 saat	%0,5 böbrek %>97 karaciğer

Tablo 2. ARB'lerin Özellikleri [99]

2.10. Kemoterapötik Ajanlar

Kemoterapi ilaçları kanserin tipine ve kullanılan ilacın çeşidine göre farklı şekillerde uygulanabilir. Oral, intramusküler, subkutan veya intravenöz yollarla uygulanabilir. En yaygın olarak intravenöz uygulama yolu tercih edilir. Sitokrom P450 enzimi, çeşitli kemoterapötik ilaçların metabolizmasında rol oynar [100].

Kemoterapinin bilinen yan etkileri, antineoplastik ajanların sitotoksik etkisinden kaynaklanmaktadır. Kemoterapi ilaçları kanser hücrelerinin yanı sıra normal hücrelere de etki eder. Kanser hücreleri tipik olarak normal hücrelerden daha hızlı büyür ve bölünür. Kemoterapiden etkilenme olasılığı en yüksek olan hızlı büyüyen normal hücreler, kemik iliğinde oluşan kan hücreleri ile sindirim sistemi, üreme sistemi ve saç foliküllerindeki hücrelerdir. Kemoterapinin yaygın yan etkileri arasında yorgunluk, mide bulantısı, ishal, oral aftlar, saç dökülmesi ve anemi bulunur. Ayrıca, immün sistemin baskılanması nedeniyle enfeksiyon riski artar. Kanser kemoterapisinin yan etkileri akut veya uzun süreli olabilir. Ek olarak, spesifik hasta popülasyonları istenmeyen durumlar açısından daha yüksek risk altında olabileceğinden, multidisipliner yaklaşım gerektirecektir. Kemoterapi alan kanser hastasının ilaç türü ve ilaç dozu gibi faktörler hastasının yaşadığı yan etkilerin türünü ve derecesini belirleyebilir.

Kemoterapinin overe verdiği hasarın derecesi kullanılan tedavinin dozuna, türüne ve tedavi sırasında hastanın yaşına göre değişmektedir. Farklı kimyasal ajanlar kanser hücrelerine hücre döngüsünün farklı aşamalarında ve farklı şekillerde zarar verir. Over disfonksiyonuna yol açan ana kemoterapi mekanizmaları iki kategoriye ayrılabilir: Oositlerde ve overin granüloza hücrelerinde doğrudan toksisiteye bağlı fonksiyon bozukluğu gelişebileceği gibi, büyümekte olan ilkel oositlerin dolaylı olarak hasarlanıp aşırı aktivasyon ve erken tükenme görülebilir [101]. Granüloza hücreleri, foliküllerin yüzeyini çevreleyen, foliküllerin oluşumunu ve gelişimini destekleyen ve bunu sağlamak için glandüler hormonlar salgılama yeteneğine sahip

bir parietal hücre tabakasıdır. Foliküllerdeki en büyük hücre grubu olan granüloza hücreleri, folikül büyümesinde ve over fonksiyonunun düzenlenmesinde büyük bir rol üstlenir. Ayrıca foliküllerin gelişimini düzenleyen, AMH ve östrojen dahil olmak üzere üreme hormonlarını salgılayan ana fonksiyonel hücrelerdir.

Aşağıda, kimyasal yapılarına ve kanser hücreleri üzerindeki etki biçimlerine göre kemoterapi ajanlarının birkaç ana kategorisi listelenmiştir:

- Alkilleyici ajanlar
- Antimetabolitler
- Bitki alkaloidleri
- Anti-tümör antibiyotikler

2.10.1. Alkilleyici ajanlar

Alkilleyici ajanlar ilk antineoplastik ilaçlar arasındaydı ve günümüzde kemoterapide en sık kullanılan ajanlardır. Alkilleyici ajanlar doğrudan DNA üzerine etki ederek DNA zincirlerinin çapraz bağlanmasına, anormal baz eşleşmesine veya DNA zinciri kopmalarına neden olarak hücrenin bölünmesini önler. Özet olarak DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu inhibe eder. Alkilleyici ajanlar genellikle hücre döngüsü fazı spesifik değildir, yani hücreyi hücre döngüsünün çeşitli ve çoklu fazlarında öldürürler [102]. Alkilleyici maddelerin örnekleri arasında klorambusil, siklofosfamid, tiotepa ve busulfan yer alır. Kemoterapötikler arasında alkillenmiş ilaçlar overe en çok hasar veren ilaç grubudur. Bu nedenle, bu çalışmada siklofosfamid tarafından indüklenen over hasarı oluşturmayı amaçladık.

2.10.2. Antimetabolitler

Antimetabolitler, hücre metabolizması ve protein üretimi için gerekli enzimlerin fonksiyonlarını değiştirir ve dolayısıyla hücrenin büyümesi için elzem olan besinleri taklit ederek onları tüketmeye zorlar. Metotreksat gibi antimetabolitler enzimatik süreçleri değiştirerek etki eder [103]. Antimetabolitler hücre döngüsüne özgüdür ve hücre bölünmesinin S-fazı sırasında en fazla etkiye sahiptirler. Pürin, pirimidin ve folat antagonistleri bu grupta bulunan ilaçlardır.

2.10.3. Bitki alkaloidleri

Bitki alkaloidleri, bitkilerden elde edilen antitümör ajanlardır. Bu ilaçlar, özellikle bir kanser hücresinin bölünmesini engelleyerek etki eder. Hücre döngüsü boyunca hareket etmelerine rağmen, bazıları S ve M fazlarında daha etkilidir ve bu ilaçları hücre döngüsüne özgü kılar. Aktinomisin D, doksorubisin ve mitomisin bu grupta yer alan ilaçlardır.

2.10.4. Antitümör antibiyotikler

Antitümör antibiyotikler hücre döngüsüne özgü değildir. Ana etki mekanizması proteinlerin oluşturulmasında önemli olan RNA (ribonükleik asit) sentezini engellemektir. Bakteriyel enfeksiyonlarda tercih edilen antibiyotiklerle farklıdırlar. Bu ilaçlar DNA'yı oluşturan genetik materyal ipliklerinin çözülmesine neden olarak hücrenin çoğalmasını engeller. Doksorubisin, mitoksantron ve bleomisin, bazı antitümör antibiyotik örnekleridir. Bleomisin, streptomyces verticillus'un fermantasyonundan izole edilen bir glikopeptid ailesinin üyesidir ve DNA veya RNA'nın oksidatif bölünmesinin aracılık ettiği belirgin antineoplastik aktivitelere sahiptir [104].

2.10.5. Siklofosfamid

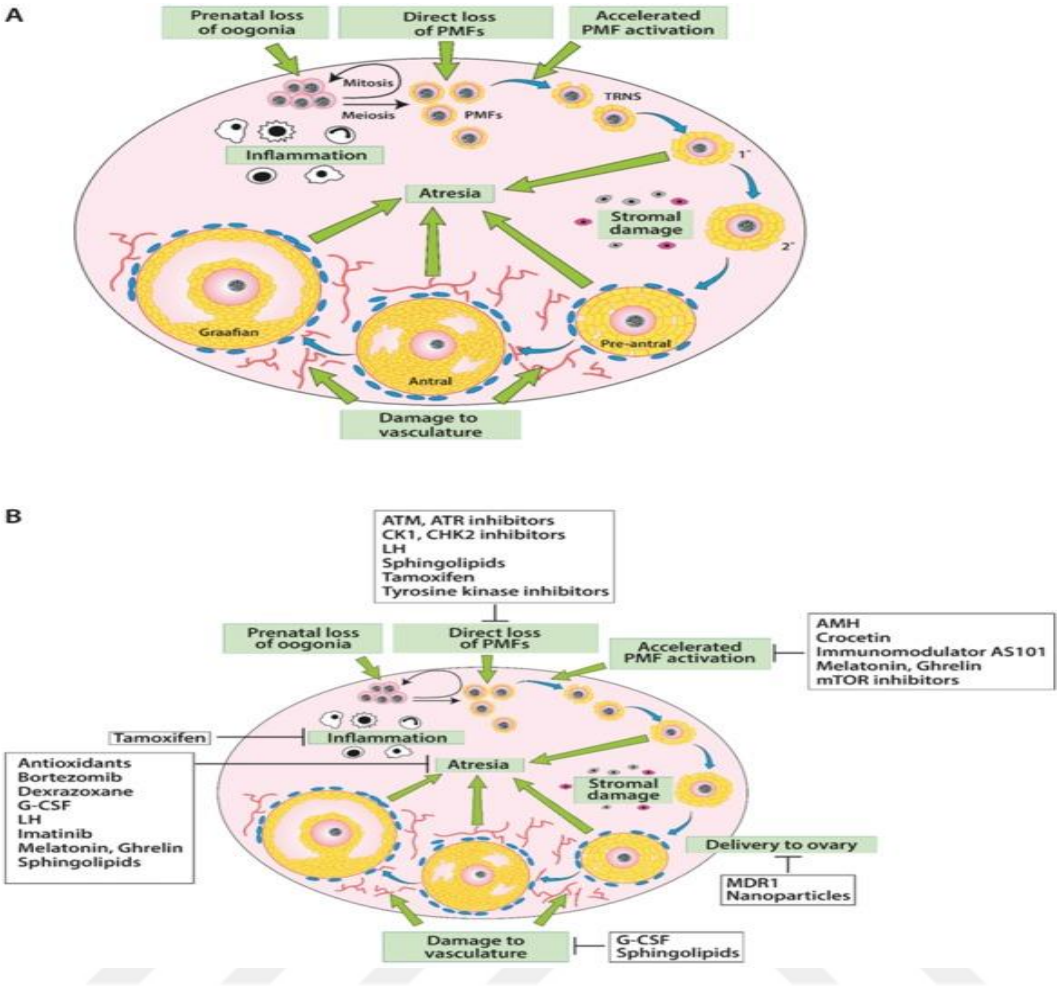
CTX, enzimatik ve kimyasal aktivasyona ihtiyaç duyan, esas olarak sitokrom P450 tarafından aktive edilen ve karaciğerde aktif metabolit 4-hidroksi-siklofosfamide (4-OH-Cy) metabolize olan bir ön ilaçtır. Antineoplastik ve immünosupresif aktivitelere sahip olan bu alkilleyici ajan karaciğerde DNA'ya bağlanarak replikasyonu inhibe eder. Bu ilacın önemli bir detoksifikasyon yolu, aldofosfamidin inaktif karboksifosfamide oksidasyonudur. CTX, esas olarak metabolitler şeklinde elimine edilir. İntravenöz uygulamayı takiben %10-20'si değişmeden idrarla, %4'ü safrayla atılır. Diğer antineoplastik ajanlarla kombinasyon halinde meme, lenfoid ve pediatrik maligniteler dahil olmak üzere çeşitli malignitelerin tedavisinde, bazı otoimmün hastalıklarda ve kemik iliği transplantasyonunda kullanılır. Bu ilaç, klinik kemoterapide güçlü bir immünosupresan olarak bilinir ve immün sistemde görev alan organlara zarar verme, sitokin ve antikor üretimini baskılama gibi istenmeyen durumlar yaratabilir. CTX'in toksik etkileri arasında kemik iliği baskılanması, kardiyak ve gonadal toksisite, hemorajik sistit ve karsinojenez bulunur. Kümülatif doz başlıca risk faktörüdür [105]. Bu nedenle, genellikle CTX bağışıklığı baskılanmış fare modelleri oluşturmak için tercih edilir.

2.10.5.1. Yan Etki ve Riskleri

- Alerjik reaksiyonlar
- Hem kadın hem de erkekte kalıcı infertiliteye neden olabilir.
- Karaciğer, kemik iliği, böbrek, akciğer ve beyinde hasara neden olabilir.
- Hemorajik sistit; uzun süre kullanımında mesane kanseri riski bulunmaktadır.
- Anemi, halsizlik, yorgunluk
- Trombositopeni ve dolayısıyla kanama riskinde artış.
- Lökopeni ve dolayısıyla enfeksiyon riskinde artış [106]

CTX gibi alkilleyici ajanların etkileri, sıçan overlerinin granüloza hücrelerinde incelenmiştir. Mitokondri membran geçirgenliğinde bir azalmaya ve dolayısıyla sitozolde sitokrom c birikimine neden olan bu ilacın kaspaz ailesinin aktivasyonuna ve bu şekilde apoptoza neden olduğu görülmüştür [107]. CTX'in ayrıca proapoptotik Bax proteinini indüklediği de gösterilmiştir. Bax, büyük ölçüde hücre sitozolünde bulunur ancak apoptozis sırasında mitokondrinin dış membranına geçerek transmembran potansiyelini azaltır. Sonuç olarak apoptotik kaskadın aktivasyonuna yol açtığı düşünülmektedir. Son zamanlarda, CTX metabolitlerinin, ağırlıklı olarak oositlerde ve in vitro kültürlenmiş fare overlerinin granüloza hücrelerinde H2AX (çift sarmallı DNA kırıklarının bir belirteci) ekspresyonunu indüklediği gözlemlenmiştir [108]. CTX'in toksik etkilerinin, DNA sentezini bozan ve overlerin antioksidan immun sistemine müdahale eden reaktif oksijen türevleri (ROT) ile ilgili olduğu da düşünülüyor. Ayrıca, CTX tedavisini takiben lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan malondialdehit (MDA) artmaktadır [109]. MDA lipidlerde çapraz bağlanmaya sebep olur. Aynı zamanda karsinojenik ve mutajeniktir.

Gonadotoksik etki kanser tanılı genç kadınlar için büyük bir kaygı nedenidir ve vakaların bazılarında hastanın tedavi kararını etkiler. Bu nedenle, over işlevselliğin ve özellikle fertilitenin korunması, mevcut klinik araştırmalarda güncelliğini koruyor. Kemoterapiye bağlı gonadotoksisiteyi önlemek için şu ana kadar ispatlanmış bir tedavi bulunmamaktadır.



Şekil 12. Kemoterapötik Ajanların Gonadotoksik Etkileri [110]

Kemoterapi ilaçlarının over üzerindeki zararlı etkileri ve bu hasara karşı potansiyel koruyucular şekil 12'de gösterilmiştir.

(A) Kemoterapi ilaçları, doğum öncesi oogonyum kaybını, primordial foliküllerin doğrudan kaybını, primordial foliküllerin hızlandırılmış aktivasyonunu, foliküler atreziyi, stromal doku hasarını, vasküler hasar veya inflamasyonu indükleyerek overe zarar verebilir.

(B) Koruyucu faktörlerin, stromal doku dışındaki tüm over hasar yollarına karşı koruma sağladığı gösterilmiştir. Diğer faktörler, ilacın overe dağılımını azaltmak için tasarlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, T.C Maltepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri yerel etik kurul tarafından 28.01.2021 tarihinde 2021.01.01 protokol kodu ile onaylanmasının ardından, T.C. Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi laboratuvarında Dünya Tıp Birliği tavsiyelerinin Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak gerçekleştirildi.

Çalışmaya dahil edilen 12 haftalık 185-224 gram ağırlığında 30 adet dişi Wistar Albino cinsi ratlar MÜDEHAM (Maltepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi) tarafından temin edilmiş olup, hayvan refah birimi ve veterinerler gözetiminde bakımları yapılmıştır. Çevre açısından ciddi bir risk öngörülmemiştir. Diğer ilgili mevzuat hükümlerine uyularak risklere karşı önlemler alınmıştır.

Sıçanlar tek tek kafeslere yerleştirildi. 20-22° sıcaklık, %50-55 nem ve 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık döngüleri olan bir ortamda ad libitum olarak beslendi [111]. Çalışma öncesi ratlara ortama alışmaları için 10 gün süre verildi. 30 adet Wistar – Albino cinsi dişi sıçan 6'şar adet olacak şekilde 5 adet gruba ayrıştırılmıştır (Tablo 3). Altı sıçan sham grubu için ayrıldı ve kalan 24 sıçan ile COF modeli oluşturuldu. COF modeli oluşturmak için sıçanlara 1. günde 200 mg/kg CTX (Endoxan, Eczacıbaşı, Türkiye) intraperitoneal enjeksiyon verildi ve ardından 14 gün boyunca 8 mg/kg/gün CTX'ye devam edildi. 14 gün sonra, kandesartan, valsartan ve telmisartan'ın COF üzerindeki etkilerini belirlemek için rastgele dört alt gruba ayrıldılar (her alt grup için n:6).

Tablo 3. Deney Grupları ve Sayıları

Araştırma ve Kontrol Grupları	Grup Başına Hayvan Adedi
Sham Grubu	**6**
Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik Grubu	**6**
Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik + Kandesartan Uygulaması Grubu	**6**
Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik + Valsartan Uygulaması Grubu	**6**
Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik + Telmisartan Uygulaması Grubu	**6**
ARAŞTIRMADA KULLANILAN TOPLAM HAYVAN SAYISI:	**30**

Grup 1: Sham Grubu

Bu grup deney hayvanına, 15 gün boyunca 5ml/kg/gün intraperitoneal olarak serum fizyolojik uygulanmıştır. Devamında ki 15 günün sonunda kan numuneleri ve patolojik inceleme örneklemleri alınmış, akabinde anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır.

Grup 2: Siklofosfamid Kaynkalı Erken Ovaryen Yetmezlik Grubu

POY oluşturulması planlanan bu grup deney hayvanına, 1. gün intraperitoneal 200 mg / kg siklofosfamid, devam eden 14 gün boyunca ise günlük intraperitoneal 8 mg / kg siklofosfamid uygulaması yapılmıştır [112]. Devamındaki 15 günün sonunda kan numuneleri ve patolojik inceleme örneklemleri alınmış, akabinde anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır.

Grup 3: Siklofosfamid Kaynkalı Erken Ovaryen Yetmezlik + Kandesartan Uygulaması Grubu

POY oluşturulması planlanan bu grup deney hayvanına, 1. gün intraperitoneal 200 mg / kg siklofosfamid, devam eden 14 gün boyunca ise günlük intraperitoneal 8 mg / kg siklofosfamid uygulanmıştır. Daha sonra bu gruba 15 gün boyunca 10mg/kg/gün dozunda kandesartan oral gavaj yolu ile uygulanmıştır [113]. Tedavi sürecinin sonunda ise kan numuneleri ve patolojik inceleme örneklemleri alınmış, akabinde anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır.

Grup 4: Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik + Valsartan Uygulaması Grubu

POY oluşturulması planlanan bu grup deney hayvanına, 1. gün intraperitoneal 200 mg / kg siklofosfamid, devam eden 14 gün boyunca ise günlük intraperitoneal 8 mg / kg siklofosfamid uygulanmıştır. Ardından bu gruba 15 gün boyunca 10mg/kg/gün dozunda valsartan oral gavaj yolu ile uygulanmıştır [114]. Tedavi sürecinin sonunda ise kan numuneleri ve patolojik inceleme örneklemleri alınmış, akabinde anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır.

Grup 5: Siklofosfamid Kaynaklı Erken Ovaryen Yetmezlik + Telmisartan Uygulaması Grubu

POY oluşturulması planlanan bu grup deney hayvanına, 1. gün intraperitoneal 200 mg / kg siklofosfamid, devam eden 14 gün boyunca ise günlük intraperitoneal 8 mg / kg siklofosfamid uygulanmıştır. Ardından bu gruba 15 gün boyunca 3mg/kg/gün dozunda telmisartan oral gavaj yolu ile uygulanmıştır [115]. Tedavi sürecinin sonunda ise kan numuneleri ve patolojik inceleme örneklemleri alınmış, akabinde anestezi altında ötenazi işlemi uygulanmıştır.

Tablo 4. Deneyde Kullanılan Ajanlar ve Özellikleri

Ajan (lar)	Doz	Uygulama yolu	Veriliş sıklığı
Siklofosfamid	**200 mg/kg/gün**	**İntraperitoneal**	**1 gün**
Siklofosfamid	**8 mg/kg/gün**	**İntraperitoneal**	**14 gün boyunca hergün**
Kandesartan	**10mg/kg/gün**	**Oral Gavaj**	**15 gün boyunca hergün**
Valsartan	**10 mg/kg/gün**	**Oral Gavaj**	**15 gün boyunca hergün**
Telmisartan	**3 mg/kg/gün**	**Oral Gavaj**	**15 gün boyunca hergün**

Çalışmanın 30. gününde anestezi uygulamasını takiben tüm deney hayvanlarına batın kesisi yapılıp hepsinin sol overi rezeke edilmiştir. Anestezi olarak ketamin hidroklorür (50 mg / kg Ketalar; Eczacıbaşı, İstanbul, Türkiye) ve ksilazin hidroklorür (10 mg / kg Rompun; Bayer, Istanbul, Türkiye) ilaçlarının intraperitoneal uygulaması yapılmıştır [116]. Ayrıca hormon ölçümleri için kardiyak bölgeden kan alınıp hayvanlara ötenazi işlemi uygulanmıştır. Deney tamamlandığında kadavralar tıbbi atık yönetmeliğine uygun olarak imha edilmiştir.

- **Histopatolojik Değerlendirme**

Over örnekleri, 48 saat boyunca %10 formalin içinde sabitlendi, etanol serilerinde dehidrate edildi, temizlendi ve parafine gömüldü. Parafin bloklar kayan bir mikrotom (Leica RM2125RTS Nussloch Almanya) kullanılarak 5 mm kalınlığında kesildi. Kesitler hematoksilen ve eozin ile boyandı ve deneyimli bir patolog tarafından ışık mikroskobu (Nikon Eclipse E600 mikroskobu) kullanılarak analiz edildi.

Over fonksiyonları değerlendirilmesi histopatolojik olarak overlerde folikül sayımı (primordial, primer, preantral, antral) ile yapılmıştır. Foliküller ortalama çaplarına göre, 4 gruba ayrılılar; primordial foliküller (çap <20 mm), preantral foliküller (20-220 mm), küçük antral foliküller (221-310 mm) ve büyük antral foliküller (311 -370 mm) [111].

- Primordial folikül: Tek bir yassı foliküler epitel hücre tabakasıyla çevrili oosit.
- Primer folikül: Bir veya daha fazla küboidal granüloza hücresi katmanıyla çevrili oosit ile karakterizedir.
- Preantral (sekonder) folikül: Folikül en az iki hücre katmanından oluşur; gelişmiş bir antrum folikülü, zona pellusida ve teka folikülü içerir.
- Antral (tersiyer) folikül: Antrum folikülü, stratum granülozum ve kümülüs oophorus tabakaları ile çevrili oositten oluşur.
-

- **Biyokimyasal Değerlendirme**

Kan örnekleri sarı kapaklı tüplere (BD Diagnostics) alındı ve serum elde etmek için 3000 g'de 10 dakika santrifüjlendi. Serum örnekleri ölçüm yapılana kadar -80°C'de saklandı. Kan örneklerinde AMH (Bioassay Technology Laboratory, Çin), E2 (Elabscience, ABD), FSH

(Bioassay Technology Laboratory, Çin) ve Superoksit Dismutaz (SOD) (Bioassay Technology Laboratory, Çin) Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) ile ölçüldü. Okumalar bir mikroplak okuyucu (Biotek Synergy Reader) ile yapılmıştır.

Over fonksiyonu, ayrıca hormonal değişikliklerle tahmin edilebilir. Bu nedenle, over fonksiyonu için temsili öngörücü belirteçler olan FSH, AMH, E2 ve SOD seviyeleri analiz edilmiştir [117].

SOD enzimi, bir süperoksit anyonunu antioksidan savunma sisteminin önemli bir bileşeni olan hidrojen peroksite (H2O2) dönüştürür. SOD, oksidatif stresin neden olduğu hasara karşı korumada yer alan ana enzimdir [118].

- **İstatstiksel analiz**

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, ortanca minimum, maksimum, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde ANOVA (Tukey testi), Kruskal-Wallis, Mann-Whitney u testi kullanıldı. Analizde SPSS 28.0 programı kullanıldı.

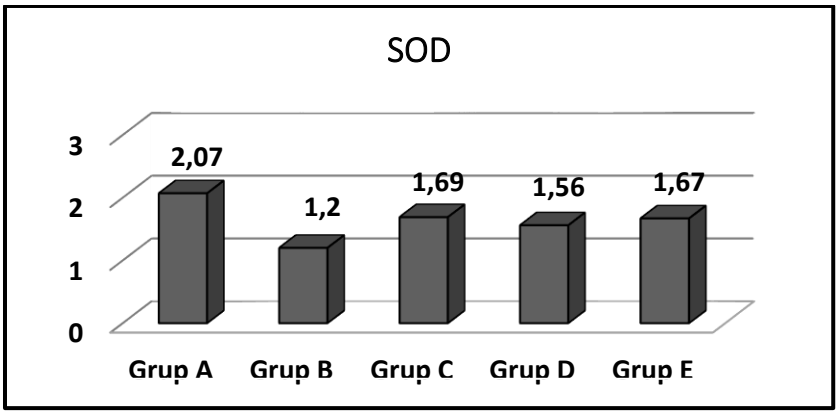
4. BULGULAR

Tüm sıçanlarda deney başarıyla tamamlanmış olup deney esnasında kayıp yaşanmamıştır. Deneyde 30 adet 12 haftalık Wistar- Albino tipi, ağırlıkları 185-224gr arasında olan dişi sıçan kullanılmıştır ve bunlar 6'şar adet olacak şekilde 5 adet gruba ayrıştırılmıştır.

Tablo 5. Biyokimyasal ve Histopatolojik Sonuçlar

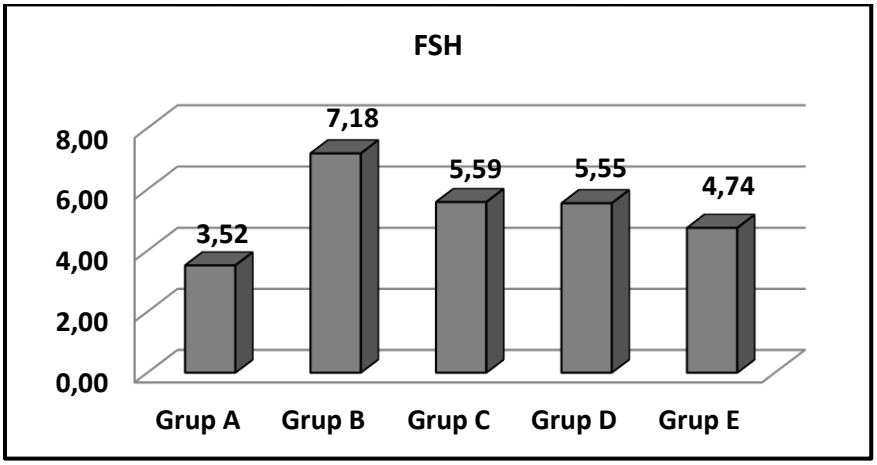
		Grup A	Grup B	Grup C	Grup D	Grup E	p	
Hormonlar								
SOD	Ort.±ss	2.07 ± 0.31	1.20 ± 0.18	1.69 ± 0.30	1.56 ± 0.43	1.67 ± 0.27	***0.002***	A
	Medyan	1.97	1.20	1.64	1.51	1.61		
FSH	Ort.±ss	3.52 ± 0.42	7.18 ± 0.93	5.59 ± 0.76	5.55 ± 1.07	4.74 ± 0.84	***0.000***	A
	Medyan	3.60	6.96	5.85	5.81	4.77		
AMH	Ort.±ss	3.83 ± 0.96	2.19 ± 0.89	3.45 ± 0.52	3.32 ± 0.82	3.16 ± 0.55	***0.015***	A
	Medyan	3.90	2.16	3.36	3.40	3.03		
Estradiol	Ort.±ss	10.28 ± 6.31	2.94 ± 1.92	6.19 ± 3.41	6.72 ± 2.54	7.17 ± 2.55	***0.037***	A
	Medyan	8.50	2.73	5.58	6.57	7.21		
Folikül Sayısı								
Primordial	Ort.±ss	10.17 ± 4.62	4.67 ± 1.21	7.17 ± 1.83	5.50 ± 1.64	7.83 ± 2.14	***0.014***	K
	Medyan	8.00	4.50	8.00	5.00	8.00		
Primer	Ort.±ss	8.67 ± 3.44	4.17 ± 1.17	5.17 ± 1.47	5.00 ± 1.90	5.33 ± 1.21	0.085	K
	Medyan	9.00	4.00	5.50	5.00	5.50		
Sekonder	Ort.±ss	5.00 ± 2.10	2.50 ± 0.55	4.67 ± 1.63	4.83 ± 1.60	5.17 ± 1.17	***0.021***	K
	Medyan	4.50	2.50	4.50	5.00	5.00		
Antral	Ort.±ss	8.50 ± 2.43	3.33 ± 0.82	7.50 ± 1.87	8.00 ± 3.03	8.33 ± 2.07	***0.002***	A
	Medyan	8.00	3.50	7.50	8.50	8.00		
Toplam	Ort.±ss	32.3 ± 11.1	14.7 ± 3.1	24.5 ± 5.9	23.3 ± 6.7	26.7 ± 4.1	***0.003***	A
	Medyan	30.0	14.5	27.5	25.5	27.0		

Şekil 13. SOD Seviyesi



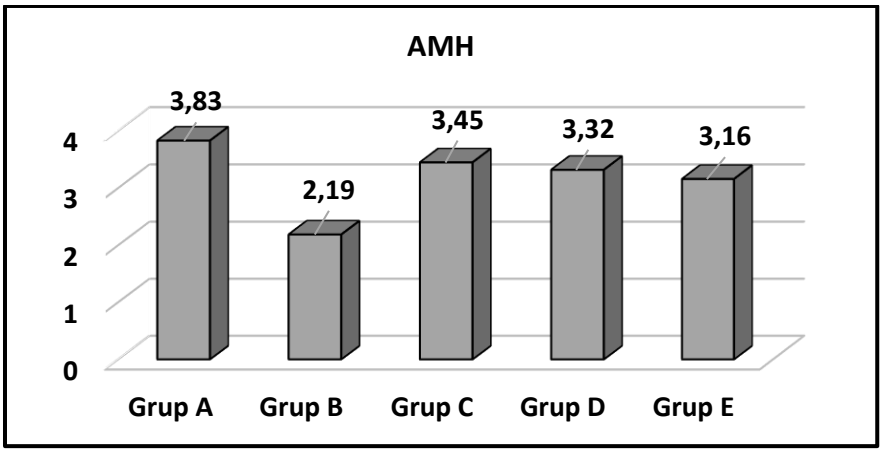
Grup A da SOD değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup C, grup D, grup E arasında SOD değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Grup A da SOD değeri grup C, grup D, grup E den anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 14. FSH Seviyesi



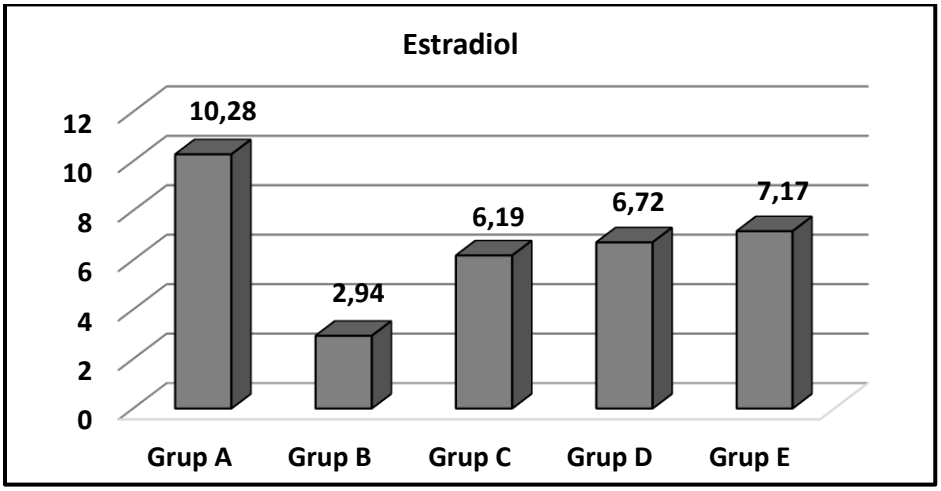
Grup B de FSH değeri grup A, grup C, grup D, grup E den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup C, grup D de FSH değeri grup A dan anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup C, grup D ve grup E arasında FSH değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir. Grup A ve grup E arasında FSH değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 15. AMH Seviyesi



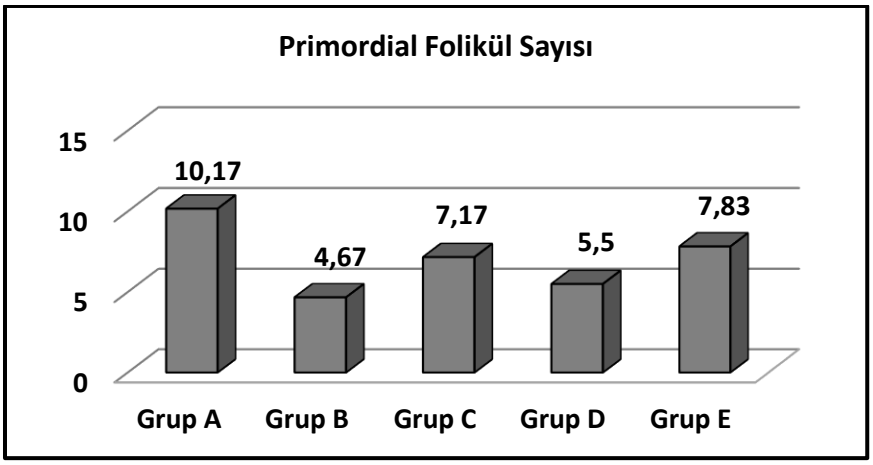
Grup A da AMH değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup C, grup D, grup E arasında AMH değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Grup A da AMH değeri grup C, grup D, grup E den anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 16. Estradiol Seviyesi



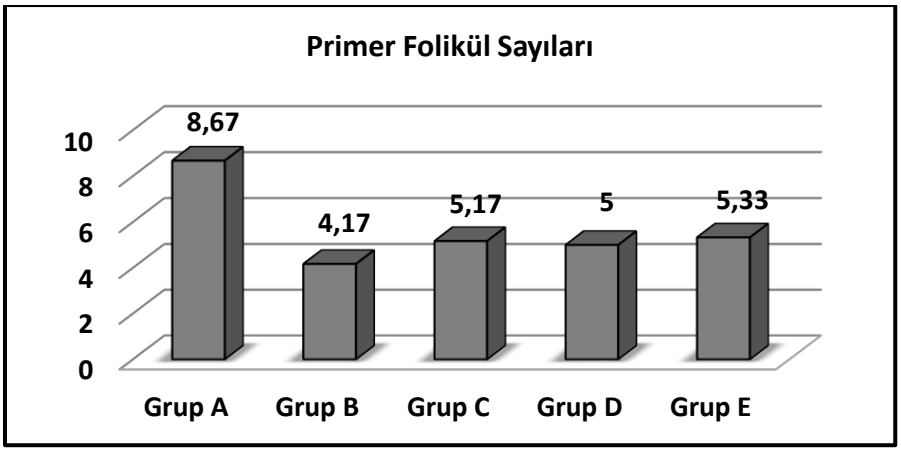
Grup A da Estradiol değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup C, grup D, grup E arasında Estradiol değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Grup A da Estradiol değeri grup C, grup D, grup E den anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 17. Primordial Folikül Sayısı



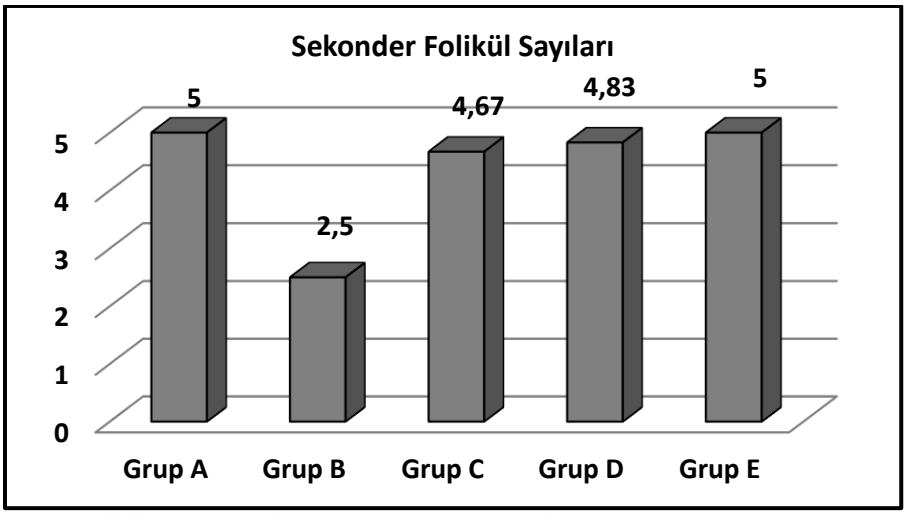
Grup A, grup C, grup E de Primordial Folikül sayı değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup A, grup C, grup E arasında Primordial Folikül sayı değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir. Grup D, grup B arasında Primordial Folikül sayı değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 18. Primer Folikül Sayısı



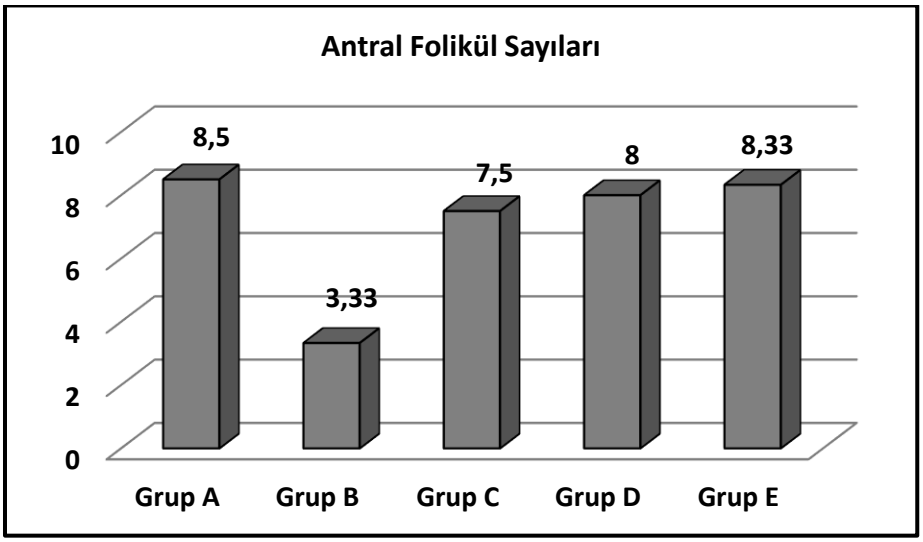
Grup A da primer folikül sayı değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup C, grup D, grup E arasında primer folikül sayı değeri anlamlı ($p > 0.05$) farklılık göstermemiştir. Grup B de primer folikül sayı değeri grup C, grup D, grup E den anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 19. Sekonder Folikül Sayısı



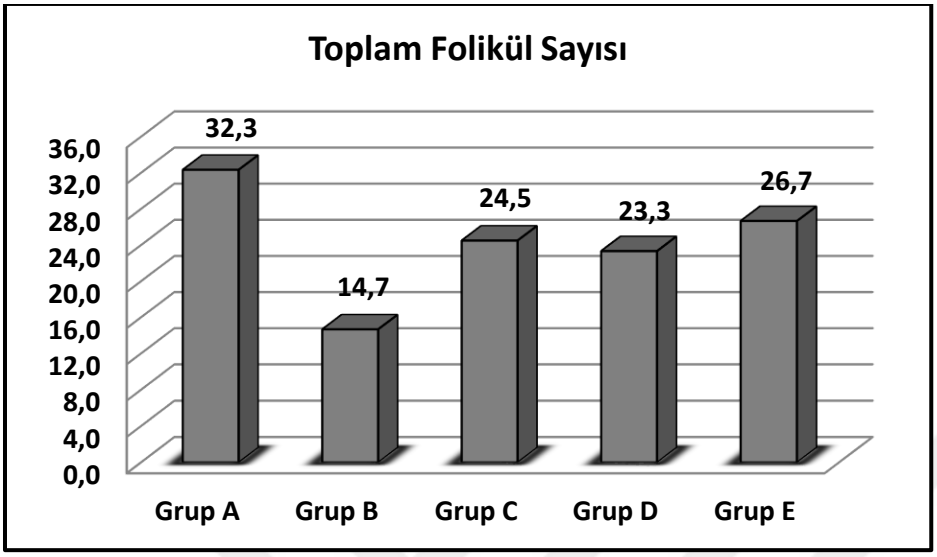
Grup A, grup C, grup D, grup E de sekonder folikül sayı değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup A, grup C, grup D, grup E arasında sekonder folikül sayı değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 20. Antral Folikül Sayısı



Grup A, grup C, grup D, grup E de antral folikül sayı değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup A, grup C, grup D, grup E arasında antral folikül sayı değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

Şekil 21. Toplam Folikül Sayısı



Grup A, grup C, grup D, grup E de toplam folikül sayı değeri grup B den anlamlı ($p < 0.05$) olarak daha yüksekti. Grup A, grup C, grup D, grup E arasında toplam folikül sayı değeri anlamlı ($p > 0.05$) olarak farklılık göstermemiştir.

5. TARTIŞMA

Kanserde erken teşhisi sağlayan tanı yöntemlerindeki gelişmeler ve tedavisindeki başarılar, hastaların hayatta kalma oranlarını arttırmıştır. Kanser tedavisi POY ve infertiliteye neden olabildiğinden, doğurganlığın korunması için tedavi yaklaşımları geliştirmek önem kazanmıştır. POY ve akabinde gelişen infertilite, reprodüktif dönemdeki kanser hastalarında kemoterapötiklerin en ciddi yan etkilerinden biridir, ancak gonadotoksik hasarlar için henüz kanıtlanmış bir tedavi bulunamamıştır. Overleri kemoterapi tedavilerinin toksisitesinden korumanın en ideal yolu, oluşan hasarı doğrudan engellemektir. Bugüne kadar elde edilen kanıtlar, kemoterapötik ajanların overler üzerinde farklı etkileri olduğunu göstermiştir. Bu sebeple uygun koruyucu tedavinin, kullanılan ilaç rejimine özel olarak uyarlanması gerekmektedir. Çalışmalar, CTX'in oositler üzerinde doğrudan etki etmediğini büyüyen foliküllerde granüloza hücrelerinin yaşlanmasını ve apoptozunu indüklediğini ve bunun da oosit kaybına yol açtığını göstermiştir [119]. Bu nedenle, granüloza hücrelerinin apoptozunun inhibe edilmesi, kemoterapinin neden olduğu POY'u önlemenin anahtarı olabilir.

Bir ilacın veya molekülün kemoterapötik ajanların overlerde oluşturduğu hasar üzerinde koruyuculuğunu saptamak için birden fazla parametre kullanılabilir.

Bir çalışmada D-Galaktoz ile POY modeli oluşturulmuştur. D-galaktoz ile indüklenen POY modelinde toplam SOD enzim aktivitesinin azaldığı bulunmuştur. SOD, süperoksit (O2−) radikalinin normal moleküler oksijene (O2) veya hidrojen peroksite (H2O2) dismutasyonunu katalize eden bir enzimdir. D-galaktoz ROT üretiminin artışına ve SOD aktivitesinin inhibisyona neden olmaktadır [120]. Bu nedenle, D-galaktozun ROT ve serbest radikallerin aşırı üretimi yoluyla üreme sisteminde apoptotik süreçleri indüklediği ve ayrıca antioksidan

enzim aktivitelerinde azalmaya neden olduğu tahmin edilmektedir. Çeşitli çalışmalar oksidatif stresin folikül ve oosit sayısını azaltabileceğini göstermiştir. Kurkumin, D-galaktoz ile indüklenen bu POY modelinde SOD gibi antioksidanların artışına neden olarak etki göstermiştir. Bizim yaptığımız çalışmada ise ARB'ler SOD düzeyi üzerinde, COF oluşturulan grup ile kıyaslandığında hafif bir artış göstermiş olsada, anlamlı bir fark yaratmamıştır ($p>0.05$). Grup A da SOD değeri grup B den anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksek saptanmış olup grup C, grup D, grup E arasında SOD değeri anlamlı ($p>0.05$) farklılık göstermemiştir. Grup A da SOD değeri grup C, grup D, grup E den anlamlı ($p>0.05$) olarak farklılık göstermemiştir ve sham grubuna benzer saptanmıştır.

Overler üzerinde protektif etkinin gösterilmesinde kullanılacak bir diğer önemli parametre ise FSH'tır. Kemoterapi tedavisi öncesi ve sonrası FSH değerleri bakılarak karşılaştırma yapılabilir.

Bir çalışmada D-galaktoz uygulamasının FSH düzeylerinde artışa sebep olduğu gösterilmiştir [120]. Yapılan başka bir çalışma, bir sıçan modelinde Kurkuminin (CRC) ve kapsaisinin (CPS) COF üzerindeki potansiyel terapötik etkilerini araştırmış ve sonuç olarak, sıçanların oksidatif stres belirteç düzeylerini, over rezerv belirteç düzeylerini ve histopatolojik parametrelerini iyileştirerek over hasarını azaltmada yararlı olduğunu göstermiştir. POY grubu ile karşılaştırıldığında, CPS ve CRC ile tedavi edilen gruplarda FSH ve LH düzeylerinde önemli düşüşler bulunmuştur [112].

Bugüne kadar, insanlarda POY'a neden olduğu bildirilen gen mutasyonlarının çoğu fare modellerinde belirlenenlerle ortaktır. Fare modellerinde umut vadeden tedavi, POY hastalarında da denenmiş ve bazı vakalarda canlı doğum bildirilmiştir [121]. Araştırmalar, kök hücre uygulamasının granüloza hücrelerinin yenilenmesinde başarılı olduğunu

göstermiştir ve bu tedavi kadın infertilite tedavisi için yeni bir seçenek olarak kabul görmüştür [122]. Kök hücrelerden türetilen küçük ekstraselüler veziküller (sEV'ler) doku rejenerasyonunda rol oynar ve bu nedenle hasarlı overler için terapötik değere sahip oldukları düşünülür. Kök hücreler, süresiz olarak çoğalma ve farklı hücre türlerine farklılaşma yetenekleri nedeniyle terapötiktir. sEV'ler'in PI3K/AKT, sirtuin (SIRT) 4 ve SIRT7 dahil olmak üzere birçok sinyal yolunu tetiklediği gösterilmiştir. PI3K/AKT yolağı, apoptozu düzenleyerek granüloza hücrelerinin proliferasyonunda ve folikülogenez için önemli olan primordial foliküllerin aktivasyonunda önemlidir. Embriyonik kök hücre kaynaklı sEV'lerin (ESC-sEV'ler) bir COF modelinde FSH'ı düzelttiği gösterilmiştir. Ayrıca ESC-sEV'lerin Bax ve kaspaz-3 gibi apoptoz ile ilişkili proteinlerin ekspresyonunda azalmaya ve Bcl-2 ekspresyonunda artışa yol açtığı saptanmıştır [123,124,125].

Raheem ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada [126] Irbesartan (IRB) isimli ARB ajanının COF modeli üzerinde etkisi araştırılmıştır. İRB peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-gama (PPAR-y) agonistik aktivitesine sahip bir ARB'dir. CTX bizim yaptığımız çalışmayla uyumlu ve beklendiği gibi overlerde biyokimyasal ve histopatolojik hasarlar oluşturmuştur. Öte yandan, IRB'nin, FSH, oksidatif stres, apoptotik ve inflamatuar mediatörlerin düzenlenmesinde etkili bulunduğu ve CTX'in toksik etkilerini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Bu veriler histopatolojik çalışmalarla da desteklenmiştir. Bu nedenle, IRB'nin CTX ile birlikte uygulanması, CTX'in overler üzerindeki toksik etkilerinin hafifletilmesinde umut verici olduğu gözlemlenmiştir.

GnRH agonistlerinin uygulanması, overleri kemoterapinin etkilerinden korumak için potansiyel bir strateji olarak uzun süredir araştırılmaktadır. Sitotoksik ilaçlar esas olarak hızlı hücre döngüsü olan dokuları etkilediğinden, kemoterapiye maruz kalma sırasında indüklenen gonadal inhibisyon durumunun gonadları koruyabileceği öne sürülmüştür. GnRH agonistleri, hipotalamik-hipofiz-gonadal eksenin baskılanmasına neden olur ve bu sayede overleri daha az fonksiyonel bir duruma getirir. Bu durumdaki bir overin kemoterapötik ajanların zararlı etkilerine karşı daha az duyarlı olacağı öne sürülmüştür. Bu hipotez, puberte öncesi bireylerin kemoterapiye bağlı over hasarına yaşlı bireylere göre daha az duyarlı göründüğü gözlemlerine dayanmaktadır. CTX uygulamasından önce üreme çağındaki kadınlarda leuprorelin kullanımı, over yetmezliğini ve infertilite risklerini azaltabildiği 2012 yılında yayımlanan bir çalışmada gösterilmiştir. GnRH agonist tedavisini takiben overin vasküler geçirgenliğinin azaldığını gösteren bir sıçan modelinde, GnRH'nin overe giden kan akışını kısıtlayarak, kemoterapötik ajanın over rezervine daha az erişimine izin verdiği gösterilmiştir. 2011 yılında yayımlanan bir çalışmada ise GnRH agonisti triptorelin'in kemoterapiden önce ve kemoterapi sırasında uygulanmasının kemoterapinin neden olduğu over yetmezliğinde önemli bir azalma sağladığı gösterilmiştir. CTX'in neden olduğu FSH artışı üzerinde koruyuculuk sağlayan triptorelin gibi başta telmisartan olmak üzere üç ARB ajanımızda FSH üzerinde benzer koruyucu etki sağlamıştır. Bununla birlikte, aynı yıl yayımlanan başka bir çalışma, GnRH tedavisini takiben kemoterapinin neden olduğu POY'da istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulamamıştır [127,128,129,130]. İki çalışmada da değerlendirmeler benzer süre sonra yapılmıştır (1 yıl sonra; 6 ay sonra), fakat neden farklı sonuçlar elde edildiği anlaşılamamıştır. Kullanılan GnRH agonistlerin farklı ajanlar oluşundan kaynaklanabileceği gibi, COF modeli oluşturulurken tercih edilen CTX'in farklı dozajlarıda bu sonuca etkili olduğunu düşünmekteyiz.

Kurkumin, kök hücrelerden elde edlen sEV'ler ve bir ARB ajanı olan İrbesartanın FSH değerini önemli ölçüde düşürebildiğini gösteren yayınlar ile karşılaştırıldığında ARB'lerin POY üzerinde koruyuculuğunu araştırdığımız bu çalışmamızda kullandığımız ajanlarımız FSH değeri üzerinde benzer başarıyı sağlamıştır.

Gonadoprotektif etkiyi değerlendirmek için kullandığımız diğer bir parametre ise AMH'tır. AMH, folikülogenez sırasında granüloza hücreleri tarafından üretilir ve bu hormonun serum seviyeleri, büyüyen foliküllerin sayısını yansıtmak için kullanılabilir. Sonuç olarak AMH mevcut olan primordial foliküllerin sayısını temsil eder. AMH seviyesi, kemoterapi sırasında hızla, E2 veya inhibin B'den daha büyük ölçüde düşer. Over rezervi açısından yaş önemli bir belirteç iken AMH'in yaştan daha güçlü bir parametre olduğu düşünülüyor. Yapılan bazı çalışmalarda over yetmezliği modeli oluşturulduktan sonra kurkuminin AMH ekspresyonunu önemli ölçüde arttırdığı ve dolayısıyla folikül sayıları üzerinde iyileştirici etkileri gösterilmiştir [112].

Bazı ilaçların oksidatif stresi arttırdığını ve bu şekilde gonadotoksisiteye neden olduğunu bildiren yayınlar mevcuttur [131]. Reaktif oksijen türevleri (ROT) ve antioksidanlar kadın üreme sağlığı üzerinde büyük bir öneme sahiptir ve bu sebeple araştırmacıların gündemini oluşturuyorlar [132]. 2021 yılında yayımlanan bir çalışmada, over dokularındaki histopatolojik değişiklikleri, oksidatif stres durumunu, folikül için hormonal analizleri değerlendirerek, COF'da diosmin ajanının etkileri denenmiş. Diosmin, esas olarak turunçgillerde bulunan doğal bir flavon glikozitidir. Antihiperglisemik, antineoplastik, antiinflamatuar ve antioksidan etkiler gösteren bir ajandır. Bu etkiler, hidroksil serbest radikal düzeylerinin azaltılması, serbest tiyol (SH-) grup konsantrasyon kapasitesinin arttırılması yoluyla elde edilir [133].

MikroRNA'lar (miRNA'lar), çoklu mesajcı RNA (mRNA) hedeflerine bağlanarak biyolojik süreçlerde ve patolojide temel rol oynayan kodlama yapmayan küçük endojen RNA'lardır [134]. mRNA'lar, folikül büyümesi, atrezi ve ovulasyon dahil olmak üzere folikülogenezin tüm süreçlerinde yer alır [136]. mRNA-145, overlerdeki en baskın mRNA popülasyonlarından biridir [135]. Mitokondriyal apoptotik yolu hedefleyerek kardiyomiyositleri oksidatif stres kaynaklı apoptoza karşı koruduğu bildirilmiştir [136]. Yapılan çalışmada diosminin ARB'ler gibi AMH seviyelerinde artış ve oksidatif stres belirteçlerinde azalma sağladığı gözlemlenmiştir.

Yapılan bir araştırma ile anjiyotensin II reseptörlerinin bloke edilmesinin PKOS'ta insülin direnci ve glukoz homeostazı üzerinde olumlu bir etkisi olduğu öne sürülmüştür. Telmisartanın PKOS'lu hastalarda androjen düzeylerini düşürebildiğini ve adet düzenini iyileştirebildiğini ayrıca anjiyotensin II reseptör blokerlerinin, PKOS'un patolojik özellikleri üzerinde iyileştirici etkisi olabilecek AMH ekspresyonunu düzenlediğini gösteren çalışmalar yapılmıştır [137]. Bizim yaptığımız çalışmada COF modeline telmisartan ve diğer iki ARB ajanının verildiği gruplarda, verilmeyen gruba göre AMH değeri daha yüksek ve kontrol grubuna daha yakın ölçülmüştür ($p=0,015$). Çalışılan üç ARB ilacının AMH değerleri açısından birbirlerine üstünlükleri saptanmamıştır ($p>0.05$).

Testosteronun foliküler büyüme ve gelişmeyi desteklediği bilinmektedir. 2020 yılında yapılan bir çalışmada CTX ile indüklenen ve testosteron ile tedavi edilen farelerin sadece CTX ile indüklenen farelerden daha yüksek serum AMH seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, testosteron tedavisinin, CTX'in neden olduğu foliküllerin azalmasını önlediğini göstermektedir [138].

Yukarıda bahsi geçen çalışmalarda Diosmin, Testosteron ve embriyonik kök hücre uygulamasının AMH ekspresyonunu arttırdığını ve bu yayınlar ile karşılaştırıldığına bizim çalışmamızda kullanılan üç ARB ajanımızında benzer şekilde etki ederek gonadoprotektif oldukları tespit edilmiştir.

Over fonksiyonlarını değerlendirmede kullanılan bir diğer değerli parametre E2 hormonudur. E2 granüloza hücreleri tarafından salgılanır ve en potent östrojenik hormondur. Yapılan çalışmalarda kurkuminin over hasarı oluşturulan modellerde E2 seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir [112]. Bu sonuca bakıldığında ARB'lerin süperoksit radikali gibi oksidatif strese neden olan moleküller üzerinden etki göstermediğini ve daha önce anlatıldığı gibi E2 düzeyindeki artışı granüloza hücre aromatazların indüklenmesiyle sağladığını doğrulamaktayız.

Bir ARB olan İRB'nin E2 ekspresyonunda etkili bulunduğu ve CTX'in overler üzerindeki toksik etkilerinin azalmasına katkı sağladığı gösterilmiştir [126].

Bir araştırmada kök hücre uygulamasının ardından COF modelinde diğer biyokimyasal belirteçlerin yanında E2 üzerindede iyileştirici etki sağladığı gösterilmiş [125].

D-galaktoz ile indüklenen POY modelinde kurkuminin AMH'a benzer E2 seviyelerinde de artış sağladığı gösterilmiştir [120].

Farklı bir çalışmada bir GnRH agonisti olan triptorelin isimli ilacın CTX'in neden olduğu E2 düzeyindeki azalma üzerinde, bizim araştırmamızda da başta telmisartan olmak üzere üç ARB ajanımızın gibi koruyuculuk sağladığı gösterilmiştir [130].

Daflon isimli ilacın gonadoprotektif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada E2 seviyelerinde artış saptanmış olup, ARB'lerin etkisine benzer sonuçlar elde edilmiştir [139].

Adremedullin2 (ADM2)/İntermedin, etkilerini kalsitonin reseptör benzeri reseptör (CALCRL) aracılığıyla gösteren bir peptittir. ADM2 mRNA, ratlarda over, uterus, mide, böbrek, beyin ve hipofiz bezinde bol miktarda eksprese edilir. Önceki çalışmalar, ADM2'nin güçlü vazodilatör ve hipotansif etkilere sahip olduğunu göstermiştir [140]. Gebelik sırasında ADM2'nin plazma düzeylerinin yükseldiğini ve sıçanlarda gebelik sırasında ADM2'nin neden olduğu vazodilatasyonun gebe olmayana göre daha fazla olduğunu bildiren bir çalışmalar mevcuttur [141]. Ayrıca, ADM2'nin 6.gün insan blastosisti tarafından salgılandığını ve erken gebe sıçanlarda endojen etkilerini bloke etmenin, embriyo implantasyon ve plasenta gelişim sorunları ile birlikte serum E2 seviyelerinde bir düşüşe neden olduğu öne sürülmüştür [142]. Bu nedenle, bu yeni peptidin başarılı bir hamileliği kolaylaştırmak için erken plasentasyona aracılık etmede potansiyel bir rolü olduğu düşünülmektedir [143]. 2015 yılında yayımlanan bir çalışma, sıçan overinde ADM2 ekspresyonunun kızgınlık döngüsündeki aşamalara göre değiştiğini ve başarılı bir hamilelik ve implantasyonu ve erken plasenta gelişimini kolaylaştırmak için potansiyel bir steroidojenik rolü olduğunu göstermiştir. Son zamanlarda, korpus luteum ve granüloza hücrelerinde ADM ekspresyonu gösterilmiş ve sonuç olarak ADM'nin korpus luteumun foliküler büyümesi, gelişimi ve farklılaşmasında potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmüştür [144]. Özetle, bu çalışma, ADM2'nin sıçan overlerindeki granüloza hücrelerinde, oositlerde, kan damarlarında ve korpus luteumda lokalize olduğunu, üretiminin, östrus döngüsünde ve gebelik sırasında değişebildiğini göstermiştir. Ayrıca overdeki sitokrom p450 genlerini aktive ederek östrojen biyosentezinde yer alan Sf1 üretimindeki artışa ve dolayısıyla ovaryan E2 sentezinin stimülasyonuna neden olduğu görülmüştür [145]. Bu bulgular ışığında ADM'nin over fonksiyonunun çeşitli yönlerinde rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

2018 yılında ‘İnternational Journal of Reproductive BioMedicine’ dergisinde, COF’lu sıçanlarda, hiperlipidemi tedavisi için düşük dozlarda reçete edilen Atorvastatin isimli ilacın kolesterol seviyesini düşürmeye ek olarak antiinflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Atorvastatinin düşük dozlarda östrojen ve progesteron düzeylerini düzelttiği, oksidan radikallerini azalttığı ve antiapoptotik aktivitelere sahip olduğu açıklanmıştır [146]. ARB’lerin COF modelinde over üzerindeki koruyuculuğunu araştırdığımız bu çalışmamızda kullandığımız ajanlarımız E2 seviyesini arttırarak benzer şekilde etki etmiştir.

Kandesartan, Valsartan ve Telmisartan ile yaptığımız çalışmamızda irbesartan ile E2 üzerinde elde edilmiş olumlu sonuçları desteklemekteyiz. Bunun yanı sıra embriyonik kök hücreler, kurkumin, triptorelin, disomin ve atorvastatin gibi ajanların POY üzerinde koruyuculuğu araştırılan yayınlarda E2 üzerinde iyileştirici etkileri tespit edilmiştir. ARB’lerin POY üzerinde koruyuculuğunu araştırdığımız bu çalışmamızda kullandığımız ajanlarımızın E2 üzerinde benzer şekilde etki ettiğini göstermekteyiz.

Son olarak folikülogenez aşamaların over hasarından ne kadar etkilendiğini araştırmayı amaçladık. Yapılan bir çalışma CTX’in farelerde primordial folikül kaybına neden olduğunu [147] ve farklı bir çalışma sisplatin isimli kemoterapötik ilacın da benzer gonadotoksik etki yaptığını göstermiştir [148]. COF oluşturulan farelerin overlerlerinde kortikal fibrozis oluşumu nedeniyle ciddi primordial folikül kaybı görülmüştür. Ayrıca büyüyen foliküllerde apoptozis yarattığı ve bunun da over rezervi kaybına neden olduğu düşünülmektedir [6]. Bizim yaptığımız çalışmada da COF oluşturulan grupta primordial foliküllerde %50’ye yakın kayıp izlenmiş olup benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Literatürü taradığımızda kurkuminin over hasarı oluşturulan modelde biyokimyasal parametrelerin yanısıra histopatolojik olarakta koruyuculuğu gösterilmiştir. Primer, sekonder, primordial ve toplam folikül sayıları üzerinde iyileştirici etkisi ARB'lerin sağladığı koruyucu etkilere benzer bulunmuştur [112,120].

Monosodyum glutamat (MSG), memelilerin merkezi sinir sisteminde baskın olan uyarıcı bir nörotransmiterdir. Sürekli yüksek konsantrasyon MSG, miyelin kılıfının iyonik geçirgenliğini değiştirebilir. Kalıcı depolarizasyona neden olarak glutamat reseptörlerinin aşırı aktivasyonuna ve dolayısıyla hücre içi aşırı kalsiyum birikmesine neden olup hücre ölümünü tetkiklemektedir. Bir çalışmada MSG'ın dişi farelerde folikül atrezisini arttırarak infertiliteye neden olabildiği ve bunun sonucunda diltiazem ile monosodyum glutamatın neden olduğu gonadotoksisitenin önlendiğini gösterilmiştir [149]

Embriyonik kök hücre kaynaklı sEV'lerin bir COF modelinde normal folikül sayısını arttırdığı ve atretik folikül sayısını azalttığı gösterilmiştir [125]. Telmisartan ve kandesartanın özellikle primordial folikül sayıları üzerinde tamamen koruyuculuk sağladığını tespit etmemiz ARB ajanlarının kök hücre uygulaması kadar folikülogenez üzerinde iyileştirme sağlayabildiğini gösterdik.

2020 yılında Türkiyede yapılan bir çalışmada bir ARB ajanı olan losartanın ovaryan iskemi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Gruplarda MDA ve Pentraksin 3 (PTX 3) parametreleri ölçülmüştür. MDA ve PTX3 over torsiyonu yapılan gruplarda belirgin artmıştır ve bu artışın overlerde oluşan iskemik hasar ile doğru orantılı olduğu saptanmıştır. Hortu ve arkadaşlarının bu çalışma ile elde ettikleri sonuca göre sıçan overlerinde iskemik hasar üzerine losartanın koruyuculuğu gösterilmiştir [150].

Elisa Acosta ve arkadaşlarının 2008 de sunduğu başka bir çalışmada ise anjiyotensin II'nin granüloza hücrelerinde apoptotik süreçlere etkisi araştırılmıştır. AII, granüloza hücrelerinin in vitro apoptozunu arttırdığı tespit edildikten sonra bir ARB olan saralasinin bu etkiyi inhibe ettiği gösterilmiştir. Dolayısıyla saralasinin granüloza hücrelerinin apoptozunda önemli bir azalma sağladığı ve bu şekilde folikül kaybını önlediği sonucuna varılmıştır [151]. Bizim çalışmamız da saralasinin folikülogenez üzerindeki bu protektif etkisini desteklemektedir zira kullandığımız üç ARB ajanınında COF modelinde folikülleri koruduğu gösterilmiştir.

Farklı bir çalışma, anjiyotensinin sıçan preovulatuar foliküllerinin oositlerinde gonadotropin kaynaklı mayozun yeniden başlamasını uyardığını tespit etmiş ve bu peptidin kendi reseptörü üzerinden fosfoinositid 3-kinaz/protein kinaz B yolunu aktive ettiği gösterilmiştir. Protein kinazlar sinyal iletimi sırasında hedef enzimlere fosfat grubunu aktararak protein aktivasyonu veya inhibisyonu yapmaktadır. Bu sinyal iletim yolağı hücre büyümesi, proliferasyonu, metabolizması ve apoptozunu içeren normal hücresel süreçlerin anahtar düzenleyicisidir ve anormal aktivasyonu, insanlardaki pek çok malignitede tümör hücrelerinin sağkalımını ve proliferasyonunu desteklemektedir [152].

Farklı bir çalışmada oksidatif stresin, muhtemelen insülin direncini indükleyerek ve hiperandrojenizm, apoptoz ve kronik inflamasyonu şiddetlendirerek PKOS patogenezinde yer aldığı bildirilmiştir. Çalışmada Telmisartan, peroksizom proliferatörü ile aktive olan reseptör-*γ'ya* (PPAR- **γ**) kısmi bir agonist olarak bağlanıp ve antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırmıştır. PPAR- **γ** reseptörlerinin aktivasyonunun protein kinaz kaskadının indüklenmesine yol açtığı gösterilmiştir. Böylece artan CD36 ekspresyonu ile makrofajların farklılaşması indüklenmiş ve oksidatif stres altındaki hücrelerin apoptozu engellenmiştir [153,154,155].

2021 yılında yayımlanan bir çalışmada allosterik Bcr-Abl tirozin kinaz inhibitörü olan Asciminib'in fare overlerinde CTX ile birlikte uygulandığında, CTX'in antineoplastik potansiyelini etkilemeden, neden olduğu over rezerv kaybını azalttığı gösterilmiştir [156].

Başka bir yayında yaygın olarak reçete edilen bir antidiabetik ajan olan metforminin CTX tedavisine karşı kemoprotektif etkilerini göstermiştir. Metforminin mTOR inhibitör yolu, gelişmiş hücre proliferasyonu ve AMPK/p53/p21 aracılı antiapoptotik etki gibi mekanizmalar yoluyla foliküler atreziyi önleyerek over rezervini ve fertiliteyi koruduğu gösterilmiştir [157]. Ayrıca, ilaç iyi tolere edildiğinden ve uzun süreli diabetik tedaviden elde edilen sonuçlara göre etki ve yan etki profili iyi bilindiğinden kullanımı önemli güvenlik sorunlarına yol açmayacaktır.

6. SONUÇ

Kanser tedavisinin over fonksiyonları ve over rezervi üzerindeki etkisi hakkında bazı araştırmalar yapılmış olsada hala birçok konu belirsizliğini korumaktadır. Çocuklarda ve üreme çağındaki kadınlarda kanser tedavisindeki başarının artması iyatrojenik POY'un zamanla artmasına neden olmuştur.

Kemoterapiye bağlı over yetmezliğinde yer alan mekanizmalar tam bilinmemekle birlikte granüloza hücrelerinin ve oositlerin işlevlerini bozarak gonadotoksisite oluşturduğu düşünülmektedir. Bireyin yaşı, ilaç tipi, dozajı ve tedaviye radyasyon eklenmesi kemoterapi sonrası over disfonksiyonu gelişiminde ana prediktif faktörlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre CTX'in neden olduğu iyatrojenik over disfonksiyonu sıçanlarda anjiotensin reseptör blokerleri olan kandesartan, valsartan ve telmisartan kullanımı ile kısmen iyileştirilmiştir. Biyokimyasal olarak en belirgin koruyucu etki E2 seviyeleri karşılaştırıldığında telmisartan ajanıyla elde edilmiştir. Telmisartan kullanılan grupta rapor edilen ortalama E2 değeri ile Grup B olan POY grubun ortalama E2 değeri karşılaştırıldığında anlamlı artış tespit edilmiştir. Histopatolojik folikül sayılarıyla yapılan analizde üç anjiotensin reseptör ajanının da protektif etkileri ile yüz güldürücü sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle primordial, antral ve toplam folikül sayıları değerlendirildiğinde ARB ajanlarının kullanımı ile CTX'in gonadotoksik etkisi neredeyse tamamen inhibe edilmiş olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda ARB olan kandesartan, valsartan ve telmisartan ile CTX ajanının yaratmış olduğu gonadotoksisiteyi engellemeyi veya en aza indirgemeyi amaçlamıştık. Elde ettiğimiz verilere göre üç ajanında biyokimyasal ve histopatolojik açıdan gonadlar üzerinde koruyucu etkileri gözlemlenmiştir fakat ileri düzey araştırma gereksinimi devam etmektedir.

Over hasarını hafifletmek ve tedavi etmek, granüloza hücrelerini korumak ve foliküllerin büyümesini ve gelişimini sürdürmek için potansiyel terapötik adaylar bulmak oldukça önemlidir.

Over fonksiyonunun erken kaybıyla ilişkili sağlık riskleri tedavisine yönelik optimal yaklaşım konusundaki anlayışımızı artırmak için ileri düzey araştırmalara ve yeni verilere ihtiyaç duymaktayız. Gelecekteki çalışmalar, kanser tedavisi planlanan kadınlarda hangi fertiliteyi koruma yöntemlerinin en uygun olduğuna karar verme imkanımızı geliştirecektir.

Literatürü incelediğimizde, bugüne kadar kemoterapinin yarattığı gonadotoksisiteyi önlemek için birçok çalışma yapılmıştır ve uzun süre yapılmaya da devam edilecek gibi görünmektedir. Araştırmaların geneline bakıldığında çalışılmış ajanların çoğunda over hasarını koruyucu etkiler tespit edilmiştir fakat kanıta dayalı bir tedavi henüz belirlenememiştir.

Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz verilere göre ARB'lerin COF modelinde biyokimyasal ve histopatolojik açıdan fayda sağladığını ve over rezervini korumada başarılı olduğunu düşünmekteyiz. Kemoterapi tedavilerine bağlı iyatrojenik POY vakalarında tedavi modaliteleri belirlemek için ileri düzey araştırmaların da yapılması tavsiye edilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Öktem, Özgür, and Bülent Urman. "Reproductive Life Cycle: Folliculogenesis And MenstruatİOn." Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology 9: 1-24.

2. He QD, Guo JJ, Zhang Q, Yau YM, Yu Y, Zhong ZH, Tong ZY, Yang ZB, Chen M. Effects of Electroacupuncture on the Gut Microbiome in Cisplatin-Induced Premature Ovarian Failure Mice. Evid Based Complement Alternat Med. 2022 Mar 14;2022:9352833. doi: 10.1155/2022/9352833. PMID: 35321505; PMCID: PMC8938064.

3. [© International Agency for Research on Cancer] [Globocan-2020] [Global Cancer Observatory] [Cancer Today] [Estimated number of new cases/death in 2020 in Turkey]

4. Miller JJ 3rd, Williams GF, Leissring JC. Multiple late complications of therapy with cyclophosphamide, including ovarian destruction. Am J Med. 1971 Apr;50(4):530-5. doi: 10.1016/0002-9343(71)90341-x. PMID: 5313910.

5. Blumenfeld, Z. "Ovarian rescue/protection from chemotherapeutic agents." Journal of the Society for Gynecologic Investigation 8.1_suppl (2001): S60-S64.

6. Chen XY, Xia HX, Guan HY, Li B, Zhang W. Follicle Loss and Apoptosis in Cyclophosphamide-Treated Mice: What's the Matter?. Int J Mol Sci. 2016;17(6):836. Published 2016 May 30. doi:10.3390/ijms17060836

7. Di Emidio, Giovanna, et al. "The natural carotenoid crocetin and the synthetic tellurium compound AS101 protect the ovary against cyclophosphamide by modulating SIRT1 and mitochondrial markers." Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2017 (2017).

8. Salminen, Antero, Kai Kaarniranta, and Anu Kauppinen. "Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process." International journal of molecular sciences 14.2 (2013): 3834-3859.

9. [© International Agency for Research on Cancer] [Globocan-2020] [Global Cancer Observatory] [Cancer Today] [Estimated number of new cases/death in 2020 worldwide]

10. Murad HA, Gazzaz ZJ, Ali SS, Ibraheem MS. Candesartan, rather than losartan, improves motor dysfunction in thioacetamide-induced chronic liver failure in rats. Braz J Med Biol Res. 2017 Sep 21;50(11):e6665. doi: 10.1590/1414-431X20176665. PMID: 28953991; PMCID: PMC5609604.

11. Uduman S, Thattakudian MS, Reddy RB, Punuru P, Chakka G, Karunakaran G. Protective role of ramipril and candesartan against myocardial ischemic reperfusion injury: a biochemical and transmission electron microscopical study. Adv Pharmacol Sci 2016;2016:4608979

12. Haiyan Jin, Naoki Yamamoto, Koichi Uchida, Shuji Terai, Isao Sakaida. Telmisartan prevents hepatic fibrosis and enzyme-altered lesions in liver cirrhosis rat induced by a choline-deficient l-amino acid-defined diet. Biochemical and Biophysical Research Communications. Volume 364, Issue 4, 2007, Pages 801-807, ISSN 0006-291X, https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.10.083.

13. Sakr HF, Abbas AM, Elsamanoudy AZ. Effect of valsartan on cardiac senescence and apoptosis in a rat model of cardiotoxicity. Can J Physiol Pharmacol.

14. Utkan NZ, Cantürk NZ. Deney Hayvanlarının ve Devey Modellerinin Seçimi. İn Cerrahi Araştırma Eds Cantürk NZ, Sayek İ. Nobel Tıp Kitabevi,2005

15. Iwanaga, R., Orlicky, D.J., Arnett, J. et al. Comparative histology of mouse, rat, and human pelvic ligaments. Int Urogynecol J 27, 1697–1704 (2016). https://doi.org/10.1007/s00192-016-3008-6

16. Gibson E, Mahdy H. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Ovary. [Updated 2021 Jul 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-

17. Silvestris E, De Palma G, Canosa S, Palini S, Dellino M, Revelli A, Paradiso AV. Human Ovarian Cortex biobanking: A Fascinating Resource for Fertility Preservation in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(9):3245. https://doi.org/10.3390/ijms21093245

18. Williams PL, Bannister LH, Dyson M, Warwick. Embryology and development - cardiovascular system. In: Gray's Anatomy. 38 th ed., Edinburgh: Churchill Livingstone; 1995. p. 324-6, 1558.

19. Henry Vandyke Carter and one more author - Henry Gray (1918) Anatomy of the Human Body (See "Book" section below) Bartleby.com: Gray's Anatomy, Plate 1170

20. Mamsen LS, Brøchner CB, Byskov AG, Møllgard K. The migration and loss of human primordial germ stem cells from the hind gut epithelium towards the gonadal ridge. Int J Dev Biol. 2012;56(10-12):771-8. doi: 10.1387/ijdb.120202lm. PMID: 23417399.

21. Tsafriri A, Pomerantz SH. Oocyte maturation inhibitor. Clin Endocrinol Metab. 1986 Feb;15(1):157-70. doi: 10.1016/s0300-595x(86)80047-0. PMID: 3514001.

22. Wassarman PM. Zona pellucida glycoproteins. J Biol Chem. 2008;283(36):24285-24289. doi:10.1074/jbc.R800027200

23. Deepak Adhikari, Kui Liu, Molecular Mechanisms Underlying the Activation of Mammalian Primordial Follicles, Endocrine Reviews, Volume 30, Issue 5, 1 August 2009, Pages 438–464,

24. Betts, J. G. (2013, April 25). Anatomy and Physiology.
25. Zhou R, Daar I, Ferris DK, White G, Paules RS, Vande Woude G. pp39mos is associated with p34cdc2 kinase in c-mosxe-transformed NIH 3T3 cells. Mol Cell Biol. 1992;12(8):3583-3589. doi:10.1128/mcb.12.8.3583-3589.1992

26. Noritaka Hirohashi, Ryuzo Yanagimachi, Sperm acrosome reaction: its site and role in fertilization, Biology of Reproduction, Volume 99, Issue 1, July 2018, Pages 127–133,

27. Keith T. Jones, Meiosis in oocytes: predisposition to aneuploidy and its increased incidence with age, Human Reproduction Update, Volume 14, Issue 2, March/April 2008, Pages 143–158,
28. Lee HR, Kim TH, Choi KC. Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ERα and ERβ, identified by estrogen receptor knockout mouse. Lab Anim Res. 2012;28(2):71-76. doi:10.5625/lar.2012.28.2.71

29. Skinner MK, Schmidt M, Savenkova MI, Sadler-Riggleman I, Nilsson EE. Regulation of granulosa and theca cell transcriptomes during ovarian antral follicle development. Mol Reprod Dev. 2008;75(9):1457-1472. doi:10.1002/mrd.20883

30. Jerome F. Strauss II, Jan M. McAllister, in Cellular Endocrinology in Health and Disease, 2014

31. Nilsson, S. and Gustafsson, J.-Å. (2011), Estrogen Receptors: Therapies Targeted to Receptor Subtypes. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 89: 44-55.

32. Cable JK, Grider MH. Physiology, Progesterone. [Updated 2022 May 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.

33. Thiyagarajan DK, Basit H, Jeanmonod R. Physiology, Menstrual Cycle. [Updated 2021 Oct 30]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.

34. Professor Peter Koopman, PhD, FAA from http://www.dsdgenetics.org

35. Plant TM. 60 YEARS OF NEUROENDOCRINOLOGY: The hypothalamo-pituitary-gonadal axis. J Endocrinol. 2015;226(2):T41-T54. doi:10.1530/JOE-15-0113

36. Richard-Eaglin A. Male and Female Hypogonadism. Nurs Clin North Am. 2018 Sep;53(3):395-405. doi: 10.1016/j.cnur.2018.04.006. PMID: 30100005.

37. Bachelot, Anne, et al. "Long-term outcome of ovarian function in women with intermittent premature ovarian insufficiency." Clinical Endocrinology 86.2 (2017): 223-228.

38. Kalantaridou SN, Nelson LM. Premature ovarian failure is not premature menopause. Ann N Y Acad Sci. 2000;900:393-402. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06251.x. PMID: 10818427.

39. Susann Karlberg, Aila Tiitinen, Henrik Alfthan, Marita Lipsanen-Nyman, Premature ovarian insufficiency and early depletion of the ovarian reserve in the monogenic Mulibrey nanism disorder, Human Reproduction, Volume 33, Issue 7, July 2018, Pages 1254–1261,

40. Chemaitilly W, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Yasui Y, Robison LL, Sklar CA. Acute ovarian failure in the childhood cancer survivor study. J Clin Endocrinol Metab. 2006 May;91(5):1723-8. doi: 10.1210/jc.2006-0020. Epub 2006 Feb 21. PMID: 16492690.

41. Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Gold EB, Santoro N. Premature menopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. Hum Reprod. 2003 Jan;18(1):199-206. doi: 10.1093/humrep/deg005. PMID: 12525467.

42. Suresh Banayya Jungari, Bal Govind Chauhan, Prevalence and Determinants of Premature Menopause among Indian Women: Issues and Challenges Ahead, *Health & Social Work*, Volume 42, Issue 2, May 2017, Pages 79–86, https://doi.org/10.1093/hsw/hlx010

43. Birgit, Borgstrom, et al. "Fertility preservation in girls with turner syndrome: prognostic signs of the presence of ovarian follicles." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 94.1 (2009): 74-80.

44. Sherman SL. Premature ovarian failure in the fragile X syndrome. Am J Med Genet. 2000 Fall;97(3):189-94. doi: 10.1002/1096-8628(200023)97:3<189::AID-AJMG1036>3.0.CO;2-J. PMID: 11449487.

45. Otsuka, Fumio, Kirsten J. McTavish, and Shunichi Shimasaki. "Integral role of GDF-9 and BMP-15 in ovarian function." Molecular reproduction and development 78.1 (2011): 9-21.

46. Kuo FT, Bentsi-Barnes IK, Barlow GM, Pisarska MD. Mutant Forkhead L2 (FOXL2) proteins associated with premature ovarian failure (POF) dimerize with wild-type FOXL2, leading to altered regulation of genes associated with granulosa cell differentiation. Endocrinology. 2011;152(10):3917-3929. doi:10.1210/en.2010-0989

47. Spencer, Jessica B., et al. "Modifiers of ovarian function in girls and women with classic galactosemia." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98.7 (2013): E1257-E1265.

48. Yoshida K, Miki Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as regulators of DNA repair, transcription, and cell cycle in response to DNA damage. Cancer Sci. 2004 Nov;95(11):866-71. doi: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb02195.x. PMID: 15546503.

49. Yu Y, Ji M, Xu W, Zhang L, Qi M, Shu J. Confrontment and solution to gonadotropin resistance and low oocyte retrieval in in vitro fertilization for type I BPES: a case series with review of literature. J Ovarian Res. 2021 Oct 28;14(1):143. doi: 10.1186/s13048-021-00900-2. PMID: 34711234; PMCID: PMC8555206.

50. Newman WG, Friedman TB, Conway GS, Demain LAM. Perrault Syndrome. 2014 Sep 25 [updated 2018 Sep 6]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993–2022. PMID: 25254289.

51. Oshima J, Martin GM, Hisama FM. Werner Syndrome. 2002 Dec 2 [Updated 2021 May 13]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022.

52. Verdin H, Matton C, De Baere E. Blepharophimosis, Ptosis, and Epicanthus Inversus Syndrome. 2004 Jul 8 [Updated 2022 Mar 10]. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022.

53. Ishizuka, Bunpei. “Current Understanding of the Etiology, Symptomatology, and Treatment Options in Premature Ovarian Insufficiency (POI).” Frontiers in endocrinology vol. 12 626924. 25 Feb. 2021, doi:10.3389/fendo.2021.626924

54. Ohl, J., et al. "Alterations of ovarian reserve tests in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-infected women." Gynecologie, obstetrique & fertilite 38.5 (2010): 313-317.

55. Dittmar, Manuela, and George J. Kahaly. "Polyglandular autoimmune syndromes: immunogenetics and long-term follow-up." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 88.7 (2003): 2983-2992.

56. Simpson JL. Genetic and phenotypic heterogeneity in ovarian failure: overview of selected candidate genes. Ann N Y Acad Sci. 2008;1135:146-54. doi: 10.1196/annals.1429.019. PMID: 18574220.

57. Wo JY, Viswanathan AN. Impact of radiotherapy on fertility, pregnancy, and neonatal outcomes in female cancer patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2009;73(5):1304-1312. doi:10.1016/j.ijrobp.2008.12.016

58. Wallace WH, Kelsey TW. Human ovarian reserve from conception to the menopause. PLoS One 2010; 5 (01) e8772 DOI: 10.1371/journal.pone.0008772.

59. Green DM, Sklar CA, Boice JD Jr, et al. Ovarian failure and reproductive outcomes after childhood cancer treatment: results from the Childhood Cancer Survivor Study. J Clin Oncol. 2009;27(14):2374-2381. doi:10.1200/JCO.2008.21.1839

60. Kaump, Geoffrey R., and James B. Spies. "The impact of uterine artery embolization on ovarian function." Journal of Vascular and Interventional Radiology 24.4 (2013): 459-467.

61. Smith, Janine A., et al. "Dry eye signs and symptoms in women with premature ovarian failure." Archives of Ophthalmology 122.2 (2004): 151-156.

62. Liao KL, Wood N, Conway GS. Premature menopause and psychological well-being. J Psychosom Obstet Gynaecol. 2000 Sep;21(3):167-74. doi: 10.3109/01674820009075624. PMID: 11076338.

63. Portman, D. J., and M. L. S. Gass. "on behalf of the Vulvovaginal Atrophy Terminology Consensus Conference Panel. Genitourinary syndrome of menopause: new terminology for vulvovaginal atrophy from the International Society for the Study of Women's Sexual Health and The North American Menopause Society. Climacteric [Internet]. octubre de 2014 [citat 20 d'agost de 2019]; 17 (5): 557-63." (2014).

64. Schnatz, Peter F. "The 2010 North American Menopause Society position statement: Updates on screening, prevention and management of postmenopausal osteoporosis." Connecticut Medicine 75.8 (2011): 485-487.

65. Anagnostis, Panagiotis, et al. "Early menopause and premature ovarian insufficiency are associated with increased risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis." European journal of endocrinology 180.1 (2019): 41-50.

66. Sullivan, Shannon D., et al. "Effect of age of self-reported, non-surgical menopause on time to first fracture and bone mineral density in the women's health initiative observational study." Menopause (New York, NY) 22.10 (2015): 1035.

67. Hu, Frank B., et al. "Age at natural menopause and risk of cardiovascular disease." Archives of internal medicine 159.10 (1999): 1061-1066.

68. Løkkegaard, E., et al. "The association between early menopause and risk of ischaemic heart disease: influence of hormone therapy." Maturitas 53.2 (2006): 226-233.

69. Lisabeth, Lynda D., et al. "Age at natural menopause and risk of ischemic stroke: the Framingham heart study." Stroke 40.4 (2009): 1044-1049.

70. Rocca, Walter A., et al. "Long-term effects of bilateral oophorectomy on brain aging: unanswered questions from the Mayo Clinic Cohort Study of Oophorectomy and Aging." Women's health 5.1 (2009): 39-48.

71. Ossewaarde, Marlies E., et al. "Age at menopause, cause-specific mortality and total life expectancy." Epidemiology (2005): 556-562.

72. Elena J. Tucker, Sonia R. Grover, Anne Bachelot, Philippe Touraine, Andrew H. Sinclair, Premature Ovarian Insufficiency: New Perspectives on Genetic Cause and Phenotypic Spectrum, Endocrine Reviews, Volume 37, Issue 6, 1 December 2016, Pages 609–635, https://doi.org/10.1210/er.2016-1047

73. Maclaran K, Panay N. Premature ovarian failure. J Fam Plann Reprod Health Care. 2011 Jan;37(1):35-42. doi: 10.1136/jfprhc.2010.0015. PMID: 21367702.

74. Williams T, Mortada R, Porter S. Diagnosis and Treatment of Polycystic Ovary Syndrome. Am Fam Physician. 2016 Jul 15;94(2):106-13. PMID: 27419327.

75. Furness, Sue, et al. "Hormone therapy in postmenopausal women and risk of endometrial hyperplasia." Cochrane Database of Systematic Reviews 3 (2004).

76. Fleseriu, Maria, et al. "Hormonal replacement in hypopituitarism in adults: an endocrine society clinical practice guideline." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 101.11 (2016): 3888-3921.

77. Ostberg, Julia E., et al. "A dose-response study of hormone replacement in young hypogonadal women: effects on intima media thickness and metabolism." Clinical endocrinology 66.4 (2007): 557-564.

78. Nagashima, Takashi, et al. "Connective tissue growth factor is required for normal follicle development and ovulation." Molecular endocrinology 25.10 (2011): 1740-1759.

79. Cakiroglu, Yigit, et al. "Effects of intraovarian injection of autologous platelet rich plasma on ovarian reserve and IVF outcome parameters in women with primary ovarian insufficiency." Aging (Albany NY) 12.11 (2020): 10211.

80. Dehghani F, Aboutalebi H, Esmaeilpour T, Panjehshahin MR, Bordbar H. Effect of platelet-rich plasma (PRP) on ovarian structures in cyclophosphamide-induced ovarian failure in female rats: a stereological study. Toxicol Mech Methods. 2018 Nov;28(9):653-659. doi: 10.1080/15376516.2018.1491662. Epub 2018 Oct 16. PMID: 29968488.

81. Sfakianoudis, Konstantinos, et al. "Autologous platelet-rich plasma treatment enables pregnancy for a woman in premature menopause." Journal of clinical medicine 8.1 (2018): 1.

82. Li, Jia, et al. "Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the reserve function of perimenopausal ovary via a paracrine mechanism." Stem cell research & therapy 8.1 (2017): 1-11.

83. Yan, Long et al. “Clinical analysis of human umbilical cord mesenchymal stem cell allotransplantation in patients with premature ovarian insufficiency.” Cell proliferation vol. 53,12 (2020): e12938. doi:10.1111/cpr.12938

84. Bellipanni, G., et al. "Effects of melatonin in perimenopausal and menopausal women: a randomized and placebo controlled study." Experimental gerontology 36.2 (2001): 297-310.

85. Fink DA, Nelson LM, Pyeritz R, et al. Fragile X Associated Primary Ovarian Insufficiency (FXPOI): Case Report and Literature Review. Front Genet. 2018;9:529. Published 2018 Nov 27. doi:10.3389/fgene.2018.00529

86. Chang SH, Kim CS, Lee KS, Kim H, Yim SV, Lim YJ, Park SK. Premenopausal factors influencing premature ovarian failure and early menopause. Maturitas. 2007 Sep 20;58(1):19-30. doi: 10.1016/j.maturitas.2007.04.001. Epub 2007 May 24. PMID: 17531410.

87. Rodriguez-Wallberg, Kenny A., and Kutluk Oktay. "Options on fertility preservation in female cancer patients." Cancer treatment reviews 38.5 (2012): 354-361.

88. Oktay, Kutluk, and Ozgur Oktem. "Ovarian cryopreservation and transplantation for fertility preservation for medical indications: report of an ongoing experience." Fertility and sterility 93.3 (2010): 762-768.

89. Kawamura, Kazuhiro, et al. "Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment." Proceedings of the National Academy of Sciences 110.43 (2013): 17474-17479.

90. Mikhael S, Punjala-Patel A, Gavrilova-Jordan L. Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis Disorders Impacting Female Fertility. Biomedicines. 2019;7(1):5. Published 2019 Jan 4. doi:10.3390/biomedicines7010005

91. Shufelt CL, Torbati T, Dutra E. Hipotalamik Amenore ve Uzun Vadeli Sağlık Sonuçları. Semin Reprod Med . 2017;35(3):256-262. doi:10.1055/s-0037-1603581

92. Bry-Gauillard H, Larrat-Ledoux F, Levaillant JM, Massin N, Maione L, Beau I, Binart N, Chanson P, Brailly-Tabard S, Hall JE, Young J. Anti-Müllerian Hormone and Ovarian Morphology in Women With Isolated Hypogonadotropic Hypogonadism/Kallmann Syndrome: Effects of Recombinant Human FSH. J Clin Endocrinol Metab. 2017 Apr 1;102(4):1102-1111. doi: 10.1210/jc.2016-3799. PMID: 28324034.

93. Ashraf, S., Nabi, M., Rasool, S.u.A. et al. Hyperandrogenism in polycystic ovarian syndrome and role of CYP gene variants: a review. Egypt J Med Hum Genet 20, 25 (2019). https://doi.org/10.1186/s43042-019-0031-4

94. Taylor, A.A., Siragy, H. and Nesbitt, S. (2011), Angiotensin Receptor Blockers: Pharmacology, Efficacy, and Safety. The Journal of Clinical Hypertension, 13: 677-686. https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2011.00518.x

95. Ripley TL, Chonlahan JS, Germany RE. Candesartan in heart failure. Clin Interv Aging. 2006;1(4):357-366. doi:10.2147/ciia.2006.1.4.357

96. Judge, Parminder, et al. "Neprilysin inhibition in chronic kidney disease." Nephrology Dialysis Transplantation 30.5 (2015): 738-743.

97. Rubattu, Speranza, et al. "Molecular implications of natriuretic peptides in the protection from hypertension and target organ damage development." International journal of molecular sciences 20.4 (2019): 798.

98. Akhrass PR, McFarlane SI. Telmisartan and cardioprotection. Vasc Health Risk Manag. 2011;7:677-683. doi:10.2147/VHRM.S9447

99. Barreras A, Gurk-Turner C. Angiotensin II receptor blockers. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2003;16(1):123-126. doi:10.1080/08998280.2003.11927893

100. Amjad MT, Chidharla A, Kasi A. Cancer Chemotherapy. [Updated 2022 Mar 3]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-.

101. Kerr, Jeffrey B., Michelle Myers, and Richard A. Anderson. "The dynamics of the primordial follicle reserve." Reproduction 146.6 (2013): R205-R215.

102. Dolmans MM, Donnez J. Chemotherapy with alkylating agents: Is follicle activation the only mechanism responsible for the loss of primordial follicles? Fertil Steril. 2021 May;115(5):1166-1167. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.03.015. Epub 2021 Mar 30. PMID: 33795138.

103. Nussbaumer, Susanne, et al. "Analysis of anticancer drugs: a review." Talanta 85.5 (2011): 2265-2289.

104. Kong, J., Yi, L., Xiong, Y. et al. The discovery and development of microbial bleomycin analogues. Appl Microbiol Biotechnol 102, 6791–6798 (2018). https://doi.org/10.1007/s00253-018-9129-8

105. Emadi, A., Jones, R. & Brodsky, R. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary. Nat Rev Clin Oncol 6, 638–647 (2009). https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2009.146

106. Ahlmann, M., Hempel, G. The effect of cyclophosphamide on the immune system: implications for clinical cancer therapy. Cancer Chemother Pharmacol 78, 661–671 (2016). https://doi.org/10.1007/s00280-016-3152-1

107. Jiang M, Wang W, Zhang J, Wang C, Bi Y, Li P, Yang S, Li J, Xu YT, Wang T. Protective Effects and Possible Mechanisms of Actions of Bushen Cuyun Recipe on Diminished Ovarian Reserve Induced by Cyclophosphamide in Rats. Front Pharmacol. 2020 May 13;11:546. doi: 10.3389/fphar.2020.00546. PMID: 32477106; PMCID: PMC7237638.

108. Female reproductive system. Young B, Heath WJ, editors. Wheater's Functional Histology: a text and colour atlas. fourth ed., Sydney: Churchill Livingstone; 2000.

109. Tsai-Turton, Miyun, et al. "Cyclophosphamide-induced apoptosis in COV434 human granulosa cells involves oxidative stress and glutathione depletion." Toxicological sciences 98.1 (2007): 216-230.

110. Spears N, Lopes F, Stefansdottir A, et al. Ovarian damage from chemotherapy and current approaches to its protection. Hum Reprod Update. 2019;25(6):673-693. doi:10.1093/humupd/dmz027

111. Sarac M, Bakal U, Kuloglu T, et al. Effects of Carnosine and Vitamin E on Nucleobindin 2 (NUCB2)/nesfatin-1, Ghrelin, Adropin, and Irisin in Experimentally Induced Ovarian Torsion. Annals of Clinical & Laboratory Science, vol. 48, no. 3, 2018

112. Melekoglu R, Ciftci O, Eraslan S, Cetin A, Basak N. Beneficial effects of curcumin and capsaicin on cyclophosphamide-induced premature ovarian failure in a rat model. J Ovarian Res. 2018 Apr 26;11(1):33. doi: 10.1186/s13048-018-0409-9. PMID: 29699594; PMCID: PMC5918567.

113. Sherif IO, Sarhan OM. Candesartan in a rat model of testicular toxicity: New insight on its protective mechanism. Exp Biol Med (Maywood). 2019 May;244(7):593-601. doi: 10.1177/1535370219842149. Epub 2019 May 1. PMID: 31042053; PMCID: PMC6545698.

114. Sakr HF, Abbas AM, Elsamanoudy AZ. Effect of valsartan on cardiac senescence and apoptosis in a rat model of cardiotoxicity. Can J Physiol Pharmacol. 2016 Jun;94(6):588-98. doi: 10.1139/cjpp-2015-0461. Epub 2015 Dec 22. PMID: 26974593.

115. Tong Q, Wu L, Jiang T, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress-activated IRE1α-TRAF2-caspase-12 apoptotic pathway is involved in the neuroprotective effects of telmisartan in the rotenone rat model of Parkinson's disease. European Journal of Pharmacology. 2016 Apr;776:106-115. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.02.042.

116. Ozler A, Turgut A, Soydinc H, et al. The Biochemical and Histologic Effects of Adnexal Torsion and Early Surgical Intervention to Unwind Detorsion on Ovarian Reserve: An Experimental Study. Reproductive Sciences 2013 20: 1349. DOI: 10.1177/1933719113485300

117. Seok J, Park H, Choi JH, Lim JY, Kim KG, Kim GJ. Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells Restore the Ovary Function in an Ovariectomized Rat Model via an Antioxidant Effect. Antioxidants (Basel). 2020 Jul 6;9(7):591. doi: 10.3390/antiox9070591. PMID: 32640638; PMCID: PMC7402146.

118. Puglia CD, Powell SR. Inhibition of cellular antioxidants: a possible mechanism of toxic cell injury. Environ Health Perspect. 1984 Aug;57:307-11. doi: 10.1289/ehp.8457307. PMID: 6094175; PMCID: PMC1568295.

119. Xiong, Ying, et al. "Cyclophosphamide promotes the proliferation inhibition of mouse ovarian granulosa cells and premature ovarian failure by activating the lncRNA-Meg3-p53-p66Shc pathway." Gene 596 (2017): 1-8.

120. Yan Z, Dai Y, Fu H, et al. Curcumin exerts a protective effect against premature ovarian failure in mice. J Mol Endocrinol. 2018;60(3):261-271. doi:10.1530/JME-17-0214

121. Kawamura, Kazuhiro, et al. "Hippo signaling disruption and Akt stimulation of ovarian follicles for infertility treatment." Proceedings of the National Academy of Sciences 110.43 (2013): 17474-17479.

122. Esfandyari, Sahar, et al. "Mesenchymal stem cells as a bio organ for treatment of female infertility." Cells 9.10 (2020): 2253.

123. Ding, Chenyue, et al. "Exosomal miRNA-320a is released from hAMSCs and regulates SIRT4 to prevent reactive oxygen species generation in POI." Molecular Therapy-Nucleic Acids 21 (2020): 37-50.

124. Liu, Mengyu, et al. "Small extracellular vesicles derived from embryonic stem cells restore ovarian function of premature ovarian failure through PI3K/AKT signaling pathway." Stem cell research & therapy 11.1 (2020): 1-12.

125. Yang, Weijie, et al. "HucMSC-derived exosomes mitigate the age-related retardation of fertility in female mice." Molecular Therapy 28.4 (2020): 1200-1213.

126. Abdel-Raheem IT, Omran GA, Katary MA. Irbesartan, an angiotensin II receptor antagonist, with selective PPAR-gamma-modulating activity improves function and structure of chemotherapy-damaged ovaries in rats. Fundam Clin Pharmacol. 2015 Jun;29(3):286-98. doi: 10.1111/fcp.12119. Epub 2015 Apr 17. PMID: 25824615.

127. Kitajima, Yoshimitsu, et al. "Hyperstimulation and a gonadotropin-releasing hormone agonist modulate ovarian vascular permeability by altering expression of the tight junction protein claudin-5." Endocrinology 147.2 (2006): 694-699.

128. Del Mastro, Lucia, et al. "Effect of the gonadotropin-releasing hormone analogue triptorelin on the occurrence of chemotherapy-induced early menopause in premenopausal women with breast cancer: a randomized trial." Jama 306.3 (2011): 269-276.

129. Periti, P., Mazzei, T. & Mini, E. Clinical Pharmacokinetics of Depot Leuprorelin. Clin Pharmacokinet 41, 485–504 (2002). https://doi.org/10.2165/00003088-200241070-00003

130. Gerber, Bernd, et al. "Effect of luteinizing hormone–releasing hormone agonist on ovarian function after modern adjuvant breast cancer chemotherapy: the GBG 37 ZORO study." Journal of clinical oncology 29.17 (2011): 2334-2341.

131. Bhardwaj, Jitender Kumar, et al. "Pesticides induced oxidative stress and female infertility: a review." Toxin Reviews (2018).

132. Agarwal A, Gupta S, Sikka S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. Curr Opin Obstet Gynecol. 2006 Jun;18(3):325-32. doi: 10.1097/01.gco.0000193003.58158.4e. PMID: 16735834.

133. Labrid, Claude. "Pharmacologic properties of Daflon 500 mg." Angiology 45 (1994)

134. Bartel, David P. "MicroRNAs: target recognition and regulatory functions." cell 136.2 (2009): 215-233.

135. Li, Ying,et al."MicroRNAs in ovarian function and disorders." Journal of ovarian research 8.1(2015): 18.

136. Li, Ruotian, et al. "MicroRNA-145 protects cardiomyocytes against hydrogen peroxide (H2O2)-induced apoptosis through targeting the mitochondria apoptotic pathway." (2012): e44907.

137. Jensterle, Mojca, et al. "Decreased androgen levels and improved menstrual pattern after angiotensin II receptor antagonist telmisartan treatment in four hypertensive patients with polycystic ovary syndrome: case series." Croatian medical journal 48.6 (2007): 864.

138. Yoo M, Tanaka T, Konishi H, Tanabe A, Taniguchi K, Komura K, Hayashi M, Ohmichi M. The Protective Effect of Testosterone on the Ovarian Reserve During Cyclophosphamide Treatment. Onco Targets Ther. 2020 Apr 8;13:2987-2995. doi: 10.2147/OTT.S242703. PMID: 32308430; PMCID: PMC7152736.

139. Abogresha, Noha M et al. “Diosmin Mitigates Cyclophosphamide Induced Premature Ovarian Insufficiency in Rat Model.” International journal of molecular sciences vol. 22,6 3044. 17 Mar. 2021, doi:10.3390/ijms22063044

140. Roh, Jaesook, et al. "Intermedin is a calcitonin/calcitonin gene-related peptide family peptide acting through the calcitonin receptor-like receptor/receptor activity-modifying protein receptor complexes." Journal of Biological Chemistry 279.8 (2004): 7264-7274.

141. Chauhan, Madhu, et al. "Adrenomedullin-2, a novel calcitonin/calcitonin-gene-related peptide family peptide, relaxes rat mesenteric artery: influence of pregnancy." Endocrinology 148.4 (2007): 1727-1735.

142. Havemann, Dara, et al. "Intermedin/adrenomedullin 2 is associated with implantation and placentation via trophoblast invasion in human pregnancy." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 98.2 (2013): 695-703.

143. Chauhan, Madhu, et al. "Expression of adrenomedullin 2 (ADM2)/intermedin (IMD) in human placenta: role in trophoblast invasion and migration." Biology of reproduction 81.4 (2009): 777-783.

144. Li, Lei,and Fai Tang."Coexpression of adrenomedullin and its receptor component proteins in the reproductive system of the rat during gestation."Reproductive Biology and Endocrinology 8.1(2010):1-12.

145. Chauhan M, Balakrishnan M, Blesson CS, Yallampalli C. Adrenomedullin2 (ADM2)/intermedin (IMD) in rat ovary: changes in estrous cycle and pregnancy and its role in ovulation and steroidogenesis. Biol Reprod. 2015 Feb;92(2):39. doi: 10.1095/biolreprod.113.112854. Epub 2014 Nov 13. PMID: 25395681; PMCID: PMC4326727.

146. Hamzeh M, Hosseinimehr SJ, Mohammadi HR, Yaghubi Beklar S, Dashti A, Talebpour Amiri F. Atorvastatin attenuates the ovarian damage induced by cyclophosphamide in rat: An experimental study. Int J Reprod Biomed. 2018 May;16(5):323-334. PMID: 30027148; PMCID: PMC6046206.

147. Kalich-Philosoph, Lital, et al. "Cyclophosphamide triggers follicle activation and “burnout”; AS101 prevents follicle loss and preserves fertility." Science translational medicine 5.185 (2013):185ra62-185ra62.

148. Jang, Hoon, et al. "Melatonin prevents cisplatin-induced primordial follicle loss via suppression of PTEN/AKT/FOXO 3a pathway activation in the mouse ovary." Journal of Pineal Research 60.3 (2016): 336-347.

149. Bojanić V, Bojanić Z, Najman S, Savić T, Jakovljević V, Najman S, Jancić S. Diltiazem prevention of toxic effects of monosodium glutamate on ovaries in rats. Gen Physiol Biophys. 2009;28 Spec No:149-54. PMID: 19893093.

150. Hortu I, Ilgen O, Sahin C, Akdemir A, Yigitturk G, Erbas O. Losartan ameliorates ovarian ischaemia/reperfusion injury in rats: an experimental study. J Obstet Gynaecol. 2020 Nov;40(8):1148-1154. doi: 10.1080/01443615.2019.1701639. Epub 2020 Jan 20. PMID: 31955629.

151. Acosta E, Peña O, Naftolin F, Avila J, Palumbo A. Angiotensin II induces apoptosis in human mural granulosa-lutein cells, but not in cumulus cells. Fertil Steril. 2009 May;91(5 Suppl):1984-9. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.04.026. Epub 2008 Aug 5. PMID: 18684452.

152. Giani, Jorge F., et al. "Angiotensin-(1–7) stimulates the phosphorylation of JAK2, IRS-1 and Akt in rat heart in vivo: role of the AT1 and Mas receptors." American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 293.2 (2007): H1154-H1163.

153. Sulaiman, Maha AH, et al. "Polycystic ovarian syndrome is linked to increased oxidative stress in Omani women." International Journal of Women's Health 10 (2018): 763.

154. Rodríguez-Lara, Simón Quetzalcoatl, et al. "Effect of telmisartan in the oxidative stress components induced by ischemia reperfusion in rats." Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2019 (2019).

155. Sekulic-Jablanovic, Marijana, et al. "Effects of peroxisome proliferator activated receptors (PPAR)-γ and-α agonists on cochlear protection from oxidative stress." PLoS One 12.11 (2017): e0188596.

156. Mattiello L, Pucci G, Marchetti F, Diederich M, Gonfloni S. Asciminib Mitigates DNA Damage Stress Signaling Induced by Cyclophosphamide in the Ovary. Int J Mol Sci. 2021 Jan 30;22(3):1395. doi: 10.3390/ijms22031395. PMID: 33573271; PMCID: PMC7866503.

157. Huang CC, Chou CH, Yang YS, Ho HN, Shun CT, Wen WF, Chen SU, Chen MJ. Metformin: a novel promising option for fertility preservation during cyclophosphamide-based chemotherapy. Mol Hum Reprod. 2021 Jan 22;27(1):gaaa084. doi: 10.1093/molehr/gaaa084. PMID: 33543290; PMCID: PMC8494485.