

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

**PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİK
ETYOPATOGENEZİNDE PLAZMA AĞIR METAL
(KADMIYUM) DÜZEYLERİNİN ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Sevil ERASLAN

Danışman

Doç. Dr. Abdullah KARAER

MALATYA – 2016

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM ANABİLİM DALI

**PREMATÜR OVARYAN YETMEZLİK
ETYOPATOGENEZİNDE PLAZMA AĞIR METAL
(KADMIYUM) DÜZEYLERİNİN ROLÜ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Sevil ERASLAN

Danışman

Doç. Dr. Abdullah KARAER

MALATYA – 2016

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
RESİMLER VE TABLOLAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Prematür Ovaryan Yetmezlik	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.4.1. Genetik Nedenler.....	7
2.1.4.1.1. POF Etiyolojisinde Genetik Nedenleri Düşündüren Bulgular.....	7
2.1.4.2. Genetik Dışı Nedenler	11
2.1.6.1. Yaşam Beklentisi.....	18
2.1.6.2. Kardiyovasküler Hastalık Riski.....	18
2.1.6.4. Bilişsel Fonksiyonlar	20
2.1.6.6. Cinsel Sağlık.....	21
2.1.7.2. Dehidroepiandrosteron	23
2.1.7.3. Fertilitenin Sağlanması	25
2.1.7.4. Kontrasepsiyon.....	26
2.2. Ağır Metaller ve Üreme Sağlığı Üzerine Etkileri.....	27
2.2.1. Kadmiyum (Cd).....	28
1. GEREÇ ve YÖNTEM	30
3.1. Çalışma Protokolü	31
3.2. Hormonal Ölçümler.....	31
3.3. Karyotip Analizi	31
3.4. Kadmiyum Analizi	31
3.4.1. Numunelerin alınması ve saklanması.....	31
3.4.1.1. Numunelerin analiz öncesi işlemleri	32
3.4.1.2. Numunelerin Analiz işlemi.....	32

3.5. İstatistiksel Değerlendirme	33
2. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ	48
7. ÖZET	49
8. SUMMARY	50
9. KAYNAKLAR.....	51



TEŞEKKÜR

İnönü Üniversitesi Tıp Fakóltesi Turgut Özal Tıp Merkezi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalındaki uzmanlık eğitimim süresince başta tez danışmanın Doç.Dr.Abdullah Karaer olmak üzere eğitime katkısı olan tüm hocalarıma, asistan arkadaşlarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde yanımda olan sevgili annem, babam ve kardeşlerime sonsuz teşekkürler...

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	: Alkilleyici Ajanlar
ACA	: Adrenokortikal Antikor
ACTH	: Adrenokortikotropin Hormon
AHR	: Aril Hidrokarbon Reseptörü
APS	: Otoimmün Poliendokrin Sendrom
AMH	: Anti Müllerian Hormon
Cd	: Kadmiyum
CYP	: Sitokrom
DHEA	: Dihidroepiandrosteron
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
E ₂	: Östradiol
EDTA	: Etilen Diamin Tetraasetik Asit
ER	: Östrojen Reseptörü
FMR1	: Frajil X Mental Retardasyon 1 Geni
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
FSHR	: Folikül Stimüle Edici Hormon Reseptörü
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
GPC3	: Glypikan 3
Gy	: Gray
HCG	: Human Koryonik Gonadotropin
HCl	: Hidroklorik Asit
HNO ₃	: Nitrik Asit
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
HS6ST2	: Heparan Sülfat 6- Osülfotransferaz 2
IGF1	: İnsülin-like Growth Faktör

IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
KMD	: Kemik Mineral Dansitesi
KT	: Kemoterapi
LH	: Lüteinize Edici Hormon
LHR	: Lüteinize Edici Hormon Reseptörü
mtDNA	: Mitokondrial Deoksiribonükleik Asit
mRNA	: Messenger Ribonükleik Asit
nDNA	: Nükleer Deoksiribonükleik Asit
Pb	: Kurşun
PIGF	: Plasental Büyüme Faktörü
PGRMC1	: Progesteron Membran Komponent 1
POF	: Prematür Ovaryan Yetmezlik
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RT	: Radyoterapi
SCA	: Steroid-Cell otoantikor
SS	: Standart Sapma
TDPF3	: Transkripsiyon Faktör DP Family Member 3
TS	: Turner Sendromu
TSH	: Tiroid Stimüle Edici Hormon
T ₃	: Tirozin
T ₄	: Tiroksin
TPO-Ab	: Tiroid Perosidaz Antikoru
VEGF-a	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü A
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi
WISE	: Women's Ischaemia Syndrome Evaluation

RESİMLER VE TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: POF etiyojisi.....	7
Resim : Atomik absorpsiyon spektrometresi (Perkin Elmer AAnalyst 800) cihazı.....	32
Tablo 2: POF tanısı alan ve kontrollerin karakteristik özellikleri	36
Tablo 3: POF tanısı alan ve kontrollerin sosyoekonomik özellikleri.....	37
Tablo 4: POF tanısı alan ve kontrollerin hormon profili ve kan kadmiyum düzeyleri	39



1. GİRİŞ

Prematür ovaryan yetmezlik (Premature ovarian failure- POF), 40 yaşından önce ovaryan fonksiyonların kesilmesi, yüksek gonadotropin ve düşük östrojen seviyeleri ve menstrüel düzensizlik (amenore ve oligomenore) ile karakterize olan bir klinik sendromdur (1). POF'un, reproduktif çağıdaki kadınların yaklaşık 1%'ini etkilediği bilinmekle birlikte; POF insidansı etnik gruplar arasında oldukça farklılık göstermektedir. POF'un uzun dönem sağlık sonuçları göz önüne alındığında POF insidansını azaltmak için çaba sarf edilmesi önerilmektedir. POF önlemede değiştirilebilir faktörler; jinekolojik cerrahide organ koruyucu cerrahi uygulaması, yaşam tarzı değişiklikleri (sigara ile mücadele) ve malign ve kronik hastalıklar ile tedavide over fonksiyonlarını etkileyebilecek tedavilerden mümkün olduğunca kaçınmaktır (2).

Doğal menopozda ovaryan fonksiyonlar geri dönüşümsüz biçimde sona ererken; POF'da hastaların %50'sinde ovaryan fonksiyonlar geçici olarak geri dönebilmektedir. Hatta POF hastalarının %5-10'unda spontan gebelik gözlemlenmektedir (3-5).

Prematür ovaryan yetmezlik klinikte en sık sekonder amenore şikayeti ile kendini gösterirken; primer amenore ile de karşımıza çıkabilmektedir. Sekonder amenore tarifleyen hastaların da yaklaşık yarısında adet düzensizliğinin olduğu bir prodromal dönem vardır. Amenore veya oligomenore şikayeti olan tüm hastalarda östrojen eksikliği semptomları sorgulanmalı ve 40 yaş öncesinde bu semptomları olan tüm hastalarda POF dışlanmalıdır (6).

POF'un kadın sağlığı üzerine yaptığı olumsuz etkilerden en göze çarpanı subfertilite olmakla birlikte; östrojen eksikliğine bağlı olarak uzun dönemde osteoporoz, kardiyovasküler hastalık riskinde artış, seksüel disfonksiyon gibi pek

çok olumsuzluk ortaya çıkabilir. Bu nedenle POF'da hasta yönetimi çok yönlü olarak ve multidisipliner bir yaklaşımla ele alınmalıdır.

POF etiolojisinde bir takım genetik, otoimmün, metabolik, enfeksiyöz ve çevresel sebepler belirtilmiştir; ancak hastaların büyük bölümünde tüm tanısal tetkiklere rağmen altta yatan neden ortaya çıkarılamamaktadır. Etyopatogeneizde öne sürülen mekanizmalar, başlangıçtaki over rezervinde azalma ve ovaryan foliküller atrezi hızındaki artmadır. İnsandaki genel yaşlanma ve reproduktif yaşlanma sürecinin oksidatif strese bağlı DNA hasarlarındaki birikim ve apoptozise dayanan aynı biyolojik sürecin birer parçası olduğu ileri sürülmektedir (7,8). Yapılan çalışmalarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyelerindeki artışın oosit kalitesini olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Artmış ROS seviyeleri, hem hücresel DNA'da (nDNA) hem de mitokondriyal DNA'da (mtDNA) nükleotid varyasyonlarına neden olmaktadır.

Sigara, alkol, beslenme ve çevresel etkenlere maruziyetin menapoz yaşını etkilediği gösterilse de; POF'un kesin nedeni olarak ortaya koyulamamıştır. POF'un kanıtlanmış nedeni olmasa da sigara kullanımını overlere toksiktir ve erken menapoz ile ilişkisi ortaya konmuştur.

Her ne kadar oluşum mekanizması çok net olmasa da, ovaryan steroidogenik hormonların biyosentez yollarındaki herhangi bir kusurun POF ile sonuçlanması kaçınılmaz gibi görünmektedir. Buradan hareketle bu tez çalışmasında steroidogenik hormonların biyosentezini bozduğu gösterilmiş olan, kadmiyum gibi ağır metallerin POF etyopatogenezindeki olası rolünün araştırılması planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Prematür Ovaryan Yetmezlik

2.1.1. Tanım

Prematür ovaryan yetmezlik (Premature ovarian failure- POF) hipergonadotropinemi ve östrojen eksikliğinin eşlik ettiği, 40 yaşından önce en az 4 ay süre ile menstrüasyon kanamalarının kesilmesi durumudur. Tanıdaki 40 yaş sınırı, ortalama menapoz yaşının $<2SD$ (standart deviasyon) altını ifade etmektedir (2). Hipergonadotropik durum en az 4 hafta ara ile ölçülen iki Folliküler stimüle edici hormon (FSH) değerinin 40 IU/L ve üzerinde olduğunun gösterilmesidir.

Artmış serum FSH düzeyi ve amenore hem doğal menapoz hem de POF'da ortak bulgulardır. Ancak POF'da ovaryan fonksiyonlar, hastaların yaklaşık %50'sinde geçici olarak geri dönebilmekte ve hastaların %5-10'unda buna bağlı spontan gebelik görülebilmektedir (3-6,9). Bu nedenle 'prematür menapoz' ya da 'erken menapoz' terimleri klinik tabloyu tam olarak açıklamakta yetersiz kalmaktadır.

Anti-Müllerian hormon (AMH) POF tanısı için yeterince ayırt edici değildir. POF tanısı için ideal biyokimyasal belirteç yoktur ve mevcut belirteçler zaman içinde değişiklik gösterebilmektedir.

2.1.2. Epidemioloji

Doğal menapoz yaşını ve toplumdaki POF sıklığını saptamak üzere pek çok çalışma yapılmış olmakla birlikte; 1986 yılında Coulam ve ark. tarafından yaklaşık 1900 kadın üzerinde yapılan prevalans çalışması bu konudaki ilk kohort çalışmadır. Bu çalışmaya göre POF, 40 yaş altı kadınların 100'de birini, 30 yaş altı kadınların 1.000'de birini, 20 yaş altı kadınların ise 10.000'de birini etkilemektedir. Yıllık menopoz insidansı, 15-29 yaş grubunda 29/100.000 iken,

30-39 yaş grubunda 76/100.000 olarak bildirilmiştir. Bu oran 40-44 yaş grubunda hızla artış göstererek 884/100.000'e çıkmaktadır (2). Günümüzde POF vakalarında artış olduğuna dair kanıtı dayalı bir bilgi bulunmamaktadır. Ancak çocuk ve genç kadınlardaki kanserlerin kür oranındaki iyileşmeler nedeniyle POF vakalarında artış olması muhtemel görülmektedir (10,11).

Farklı etnik gruplardaki POF prevalansını saptamak üzere, Amerika Birleşik Devletleri'nde yaşayan kadınlarda yürütülen geniş çaplı bir kohort çalışmasında POF prevalansı tüm ırklarda % 1,1, Kafkas kökenlilerde % 1,0, Afrika kökenli-Amerikalılarda % 1,4, İspanyol kökenlilerde % 1,4, Çin kökenlilerde % 0,5, Japon kökenlilerde ise % 0,1 olarak bildirilmiştir (12). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada Wu ve arkadaşları Çinli kadınlarda POF prevalansını %2,8 olarak bildirmişlerdir (13).

Prevalansın etnik gruplar arasında bu derece farklılık göstermesi POF etiolojisinde genetik faktörlerin de etkili olduğunu düşündürmektedir.

2.1.3. Tanı

POF tanısı, hasta için oldukça yıkıcı olabilen, kabullenilmesi zor bir tanıdır. Bu nedenle hastayı tanı konusunda bilgilendirirken, hasta psikolojisini dikkate alan, iyi planlanmış hassas bir yaklaşım tercih edilmelidir (14). Teşhisin hastaya aktarılma şekli hastanın hissedeceği ruhsal çöküntünün derecesini etkileyebilir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada spontan POF tanısı alan hastaların %71'inin doktoru tarafından yapılan bilgilendirmeden tatmin olmadıkları belirtilmiştir (15). Hastaya tanı anlatılırken geçici remisyon ve spontan gebelik şansı gibi POF'u normal menopozdan ayıran farkların altı özellikle çizilmelidir.

POF tanı kriterleri henüz profesyonel bir organizasyon tarafından standardize edilmediğinden teşhiste gecikmeye ve hasta yönetiminde aksaklıklara neden olabilmektedir.

POF genelde daha önce düzenli olan menstrual siklularda düzensizleşme ile kendini gösterir. Bir kız çocuğunun 15 yaşında iken halen adet görmemesi

(primer amenore) ya da adet gören bir kadında adetlerin 4 ay veya daha uzun süre ile kesilmesi (sekonder amenore) teşhis açısından şüphe uyandırmalıdır. Menstrüasyon aralığı 90 gün ve üzerinde olan ya da yıllık siklus sayısı dokuzun altında olan her kadında tanıya yönelik inceleme başlatılmalıdır (16). Çünkü POF, primer amenore vakalarının %10 - 28'inin, sekonder amenore vakalarının ise % 4 - 18'inin altında yatan nedenidir (2,17).

POF'un klasik tanımlamalarında, tanı kriteri olarak genelde dört ay ve üzerinde amenore öyküsü öngörülmektedir. Ancak bu hastalarda zaman zaman menstural kanamaya neden olacak biçimde ovaryan fonksiyonlar geri dönebildiği için pratik uygulamada, amenore olmasa da menapozal FSH değerlerine eşlik eden dört ay ya da daha uzun süreli 'düzensiz menstrüasyon' (amenore, oligomenore, polimenore, metroraji) öyküsü de tanıda dikkate alınmalıdır. Vazomotor semptomlar (sıcak basması, gece terlemesi), uyku bozukluğu, vajinal kuruluk, disparoni tüm hastalarda görülmemekle birlikte, östrojen eksikliğine bağlı ortaya çıkabilen semptomlardır (18).

Sekonder amenore ile başvuran hastalarda gebeliğin ekartasyonunun ardından uygulanacak tanısal yaklaşım minimum olarak serum folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), östradiol (E₂), troid stimüle edici hormon (TSH) ve prolaktin düzeylerinin ölçümlerini içermelidir (14). Menapozal düzeyde FSH tespit edilen hastalarda hipogonadizmi konfirme etmek üzere 4-6 hafta sonra FSH ve E₂ ölçümü tekrarlanmalıdır (19).

Ovaryan fonksiyonları değerlendirmek için önceleri progesteron çekilme testi uygulanmaktaydı, ancak progesteron çekilme testi ile kanama görülen kadınların %50'si menapozal düzeyde FSH'ya sahiptir ve bu teste güvenerek yapılan hasta yönetimi tanıda gereksiz gecikmeye neden olabilmektedir (6).

Primer amenore ile başvuran POF hastalarının yaklaşık %50'sinde karyotip anomalisi saptanmaktadır. Ancak hastaların büyük bölümünü oluşturan sekonder amenore ile başvuran grubun ise ancak %13'ünde karyotip anomalisi tespit edilmektedir (9). Bir sendromla ilişkili olmayan POF durumunda, sebebi belirlemeye yönelik önerilen laboratuvar testleri karyotip analizi, fragil X mental

retardasyon 1 geni (FMR1), premutasyon analizi ve adrenal antikor tayinini içermelidir. İzole spontan primer ovaryan yetmezliği olan 46,XX kadınların %2'sinde, ailevi spontan primer ovaryan yetmezliği olan 46,XX kadınların ise %14'ünde FMR1 premutasyonu saptanmıştır (20). Adrenal antikor testi primer ovaryan yetmezlikli hastaların %4'ünde pozitifdir. Bu hastalarda steroidojenik hücre otoimmünitesi vardır ve lenfositik otoimmün ooforit nedeniyle ovaryan yetmezlik gelişmektedir. Ovaryan biyopsi hasta yönetiminde ek avantaj sağlamamaktadır. Literatürde ovaryan biopsi ile folikül olmadığı ortaya konan kadınlarda dahi gebelik vakaları bildirilmiştir (9).

2.1.4. Nedenler

POF vakalarının büyük çoğunluğu idyopatikdir ve çoğu hastada yapılan tüm incelemelere rağmen altta yatan bir neden ortaya konulamamaktadır (9). İdyopatik POF tanısı konulan hastaların kesin sayısı belirlenmemiştir ve bunun belirlenmesi konuma, hasta popülasyonuna ve nedenleri tanımlayabilecek mevcut araştırma olanaklarına bağlıdır. İdyopatik POF olan kadınların oranını tanımlayan primer bir çalışma bulunmamaktadır. POF ilgili olan derlemelerde olguların %90 veya büyük çoğunluğu idyopatik olarak bildirilmiştir. (19-24)

Etiyolojik araştırmalar ise daha çok, vakaların küçük bir kısmında altta yatan genetik (kromozomal defektler, fragil X sendromu, otozomal gen defektleri), otoimmün, enfeksiyöz ve iatrojenik faktörleri (cerrahi, radyoterapi, kemoterapi) ortaya çıkarmaya yöneliktir.

POF etiyojisi Tablo 1' de ana başlıklar halinde özetlenmiştir.

Tablo 1 : POF etiyojisi

Genetik nedenler	
X kromozom bozuklukları	Turner sendromu Diğer X kromozomu delesyon/translokasyonları Frajil X sendromu premutasyon taşıyıcıları
Somatik kromozomal defektler	Galaktozemi BMP15 Diğer nadir sendromik defektler
Genetik dışı nedenler	
Otoimmün nedenler	
Ovaryan toksinler	Kemoterapi / Radyoterapi Viral enfeksiyonlar Diğer toksinler (sigara, ağır metaller, vs.)

2.1.4.1. Genetik Nedenler

2.1.4.1.1. POF Etiyojisinde Genetik Nedenleri Düşündüren Bulgular

POF etyopatogenezinde bir takım genetik mekanizmaların rol aldığı düşünülmektedir. Çalışmalar POF tanısı alan hastaların %10-12'sinde, çoğunluğunu (%94) X kromozomu anormalliklerinin (X kromozomu yapısal anormallikleri veya X anöploidisi) oluşturduğu kromozomal anormalliğin olduğunu bildirmiştir. Primer amenoresi olanlarda anormal karyotip insidansı

(%21) sekonder amenore olanlardan (%11) daha yüksektir (25-26). Kromozom analizi için önerilen spesifik bir eşik yaş değeri yoktur. İatrojenik olmayan POF saptanan tüm kadınlarda kromozom analizi uygulanmalıdır. Y kromozomu varlığında artan gonadal neoplazi gelişme riski vardır ve Y kromozom materyali saptanan tüm kadınlarda gonadektomi önerilmelidir (27).

Turner sendromu olan ya da X kromozom anomalisi olan hastalarda izlenen ovaryan bozukluklar, X-bağlantılı genlerin ovaryan fonksiyonlar üzerinde önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. POF'lu ailelerde erkek birey sayısının kontrol grubuna göre az olması X kromozomuna dikkat çeken bir diğer bulgudur (28). Bu durum, erkekte tek bir X kromozomu olması nedeni ile X kromozomundaki her hangi bir problemde intrauterin yaşam şansının azalmasına bağlanabilir. Nitekim diğer bir çalışmada da POF hastalarının erkek kardeş sayısının kontrol grubuna göre daha az olduğu bildirilmiştir (29).

İnsan ve hayvanda tek gen kusurlarına bağlı POF vakalarının bildirilmesi X-dışı genetik bölgelerin de POF etiolojisinde yer alabileceğine işaret etmektedir. Son yapılan Genom Wide Assosiasyon çalışmalarında 5,6,13,19. ve 20. kromozom üzerinde doğal menapoz yaşı ile anlamlı ilişki gösteren gen bölgelerinin tespit edildiği bildirilmiştir (30-31).

Bazı ailelerde farklı jenerasyonlarda çok sayıda POF vakası bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda ailevi POF vakalarının oranı %4-31 aralığında rapor edilmiştir (29). Bu farklılığın temelinde POF tanı kriterlerindeki ve aile öyküsünün sorgulanmasındaki farklılıkların yattığı düşünülmektedir. Klasik kriterlere göre, 40 yaşından önce POF tanısı almış normal karyotipli hastaların aileleri incelendiğinde ailevi POF insidansı %12,7 olarak bildirilmiştir (3).

Aile ve ikiz çalışmalarından, menapoz yaşının belirlenmesinde genetik faktörlerin rol aldığına dair kanıtlar elde edilmiştir. Menapoza 45 yaşından önce girmiş kadınlarda, erken menapoza girmiş anne, kız kardeş, teyze ve anneanne öyküsü kontrol grubuna göre 4 ile 9 kat daha sık görülmektedir (32). Ailede erken menapozun birden fazla aile bireyinde ve 40 yaşından önce görülmesi durumunda

risk daha da artmaktadır. POF'lu hastalarda X kromozomunun uzun kolunda gösterilen bazı küçük delesyonlar, bu bölgede (Xq26-qter) folikülogenezde rol alan gen lokuslarının olabileceği yönündeki ilk bulgular olmuştur (33). Daha sonra, farklı çalışmalarda da POF hastalarında Xq delesyonları tespit edilmesi bu görüşü desteklemektedir. Yapılan moleküler delesyon analizi ile POF1 olarak isimlendirilen bu bölge Xq26.2-q28 olacak şekilde daraltılmıştır (34). POF1 bölgesi yaklaşık 22 Mb büyüklüğündedir ve yerleşim itibari ile tamamı POF için aday gen olan 190 gen içermektedir. Bunlardan en bilinenleri Fragile Site Mental Retardation 1 (FMR1), Heparan Sulfat 6-OSulfotransferaz 2 (HS6ST2), Transkripsiyon Faktör DP Family member 3 (TDPF3) ve Glypikan 3 (GPC3)'tür (35).

Fertiliteyi etkileyen yapısal X kromozomu anomalilerinden en bilineni olan Turner Sendromu (TS), 2000 canlı kız doğumdan birinde görülen, sık kromozomal anomalilerden birisidir. Sitogenetik olarak, Turner Sendromun'da X kromozomu monozomisi, anormal X kromozomu, 45X hücre grubuna eşlik eden 46XX, 46XY veya farklı seks kromozomu dizilimleri görülebilmektedir. Fenotip ile sitogenetik yapı korelasyon göstermektedir. Saf 45X monozomisi en sık görülen ve en ciddi fenotipik bulgulara sahip olan formdur (36-37). Turner Sendromu fenotipinde büyük oranda çeşitlilik gözlenmektedir. Etkilenen bireylerde, kısa boy, gonadal disgenezi, bilişsel bozukluk, kardiyak ve renal anomalilere ek olarak yele boyun, düşük kulak, düşük saç çizgisi, yelken göğüs, cubitis valgus, ve diğer bazı fenotipik özellikler görülebilir. Fenotipteki bu geniş varyasyon hem karyotip anomalisindeki 45,X0'dan X kromozomunun yapısal bozukluklarına kadar değişen genetik varyasyondan, hem de mozaizizmden kaynaklanmaktadır. 45,X hastalarda infertilite, mayotik profazda pakiten evresinden hemen önce meydana gelen oosit kaybından kaynaklanmaktadır. Turner Sendromlu hastalarda foliküler atrezi hızı artmaktadır (38-39). Yani bu hastalar, prenatal dönemde artmış atreziye bağlı olarak doğum zamanına geldiğinde neredeyse tüm foliküllerini kaybetmiş olarak doğarlar. Bunun sonucu olarak primer amenore ve streak gonad gelişir. Bu nedenle, normal kadın

fertilitesi ve over fonksiyonunun sağlanması için iki fonksiyonel X kromozomuna ihtiyaç olduğu ve erken ovaryan süreklilik için gerekli olan X genlerinin çift dozda eksprese edilmesi gerektiği öne sürülmüştür (40). Ovaryan yetmezliğin şiddeti mayotik ayrılma hatalarının miktarı ile korelasyon gösterdiğinden, Turner Sendromun'da görülen ovaryan yetmezliğin non-spesifik ayrılma hatalarından kaynaklanabileceği ileri sürülmüştür (41). X kromozomunun kısa kolundaki delesyonların genellikle primer; uzun kolundaki delesyonların ise primer ya da sekonder amenoreye neden olduğu bildirilmiştir (42). Bu nedenle normal ovaryan fonksiyon ve fertilitate için X kromozomunun hem uzun hem de kısa kolunda önemli genler taşıdığı düşünülmektedir.

İlk defa 1959 yılında, normal entellektüel kapasiteye sahip, sekonder amenore ile başvuran, 19 yaşında bir kadında tanımlanmış olan trizomi X, kadınlarda fazladan bir X kromozomu bulunması ile karakterize olan bir seks kromozomu anöploidisidir (43). 1.000 canlı kız doğumunun birinde görüldüğü, ama etkilenen bireylerin yalnız %10 kadarının tanı aldığı bildirilmiştir (44). Klinik tabloda, klinodaktili, pes planus, hipertelorizm, epikantal katlantı, artmış eklem fleksibilitesi gözlenebilir (45). Trizomi X vakalarının çoğunda, puberte başlangıcı ve seksüel gelişim normal olmakla birlikte, bildirilen bazı ovaryan ve uterin disgenezi vakaları mevcuttur. Trizomi X ile POF birlikteliği, yaşları 19-40 arasında değişen pek çok vakada tarif edilmiştir (46). Yapılan bir çalışmada POF hastalarının %3'ünde trizomi X'e rastlandığı bildirilmiştir (47). Trizomi X'te direk olarak fertilitate ile ilgili bir çalışma henüz yapılmamış olmakla birlikte pek çok başarılı gebelik bildirimleri mevcuttur.

POF'un bilinen sebeplerinden de en sık olanı frajil-X mental-retardasyon 1 (FMR1) premütasyonudur. Ailevi POF vakalarının %21'inin FMR1 premütasyonundan kaynaklandığı bildirilmiştir (48). Premütasyon taşıyıcılığının hangi mekanizma ile POF'a neden olduğu tartışma konusudur. Over rezervini azalttığı ve atrezi hızını artırdığına dair hipotezler söz konusudur (49). Frajil- X sendromu FMR1 genindeki mutasyonun neden olduğu X'e bağlı kalıtsal bir hastalıktır. Full mutasyon (>200 CGG tekrarı) özellikle mutasyonu taşıyan

erkeklerde mental retardasyona neden olabilir. Premutasyon (55-200 tekrar) taşıyan kadınlar artmış entellektüel yetersizlik riski taşımaz iken, artmış POF geliştirme riski (%13-26) taşırlar. POF gelişme riski tam veya orta büyüklükteki CGG tekrarı (45-54 tekrar) mutasyonuna sahip kadınlarda artmamıştır (20,50). POF saptanan tüm kadınlarda sadece POF nedenini saptamak için değil, aynı zamanda mutasyon varlığının hasta ve ailesi üzerine major etkileri olabilmesi nedeniyle Frajil-X testi yapılması endikedir. Aile bireyleri de taşıyıcı olabilir ve bu taşıyıcılık riski nedeniyle POF gelişim riski ve frajil X sendromlu çocuklara sahip olma riski mevcuttur. Ek olarak hastanın halihazırda taşıyıcı kızları da olabilir.

POF'a neden olan faktörler arasında çok sayıda otozomal gen ileri sürülmüştür. Bu genlerden bir kısmında mutasyon tanımlanmış iken bir kısmı ileri araştırma gereken aday genler olarak sıralanmıştır. Etnik olarak farklı popülasyonlar POF'a neden olan farklı genler ve gen düzenleyici yollar gösterbilir (51). POF üzerine yapılan gen çalışmalarının çoğu çalışmacıların folikülogenez veya ovaryan fonksiyonda rol oynadığı bilinen genlerin taranması ile ilgili aday genlere odaklıdır. Bu nedenle POF'a neden olabilecek tanımlanmış mutasyonlara sahip genler folikülogenez (NR5A1, NOBOX, FIGLA ve FOXL2), folikülogenezde etkili büyüme faktörleri (BMP15, GDF9, inhibin A), ovaryan stereoidogenez (FSH, FSHR, LH, LHR) ve POF ile ilişkili sendromlarda (BLM, WRN, RTS) tanımlanmış genlerdir (52).

POF olan kadınlarda spesifik bir mutasyonu akla getiren bir kanıt yok ise otozomal gen testi için şimdilik endikasyon bulunmamaktadır.

2.1.4.2. Genetik Dışı Nedenler

Ovaryan hasara neden olduğu bilinen faktörlerin başında kemoterapi (KT) ve radyoterapi (RT) ajanları gelir. Çocukluk kanserlerinden sağ kalanların incelendiği, bir kolu 1993'te diğer kolu 2007'de başlatılan geniş çaplı kohort çalışmada, çocukluk döneminde uygulanan kanser tedavisinin hastalar üzerindeki uzun dönem etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, 18 yaşından sonra tedavi alan

hastalarda tedavi almayanlara göre POF riskinin 13 kat artmış olduğu; riskin tedavi alınan yaşa, RT dozuna ve alkilleyici ajan dozuna paralel olarak artış gösterdiği bildirilmiştir (10,53). Bu tip tedavi alan hastaların kendi yaş grupları ile karşılaştırıldıklarında, ultrasonografik incelemelerinde daha az antral foliküle ve over biyopsilerinde daha az primordiyal foliküle rastlanılmıştır (54).

KT ilaçları içerisinde ovaryan hasara en sık neden olan grup, Hodgkin Hastalığı ve bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılan alkilleyici ajanlardır (55-56). Alkilleyici ajanlar, bazı kritik hücrel makromoleküllerle kovalent bağ oluşturabilen reaktif moleküllerdir. Tek reaktif grup taşıyan Alkilleyici ajanın (monofonksiyonel alkilleyici ajanlar) siklofosamid gibi bifonksiyonel ajanlara göre POF ile daha az ilişkili olduğu bildirilmiştir (53-57).

Alkilleyici ajanlar içeren KT protokolleri ile tedavi edilen 30 yaş altındaki hastalarda POF gelişme riskinin %5-25 olduğu bildirilmiştir (58). Alkilleyici ajanlar hücre proliferasyonundan bağımsız olarak sitotoksik etki gösterebildikleri için, hem oositleri hem de primordiyal foliküllerin pregranuloza hücrelerini hasarlayabilirler (59). Osteosarkom tedavisinde yüksek dozda kullanılan metotroksat, günümüzde ektopik gebelik tedavisinde de yaygın biçimde kullanılmaktadır. Metotroksatın overler üzerine etkisi hakkında yeterli veri olmamakla birlikte, henüz olumsuz bir etki bildirilmemiştir (60). Kemoterapi sırasında oosit kalitesinin korunması için eş zamanlı GnRH analogu başlanması şeklindeki yaklaşım bazı çalışmalarla ve meta-analizlerle desteklenmekle birlikte, bu yaklaşımın etkinliğinin gösterilmesi için bu bulgunun randomize çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir (16).

Foliküller radyasyona karşı da oldukça hassastır. Hızlı bölünen teka ve granuloza hücrelerinin hasarı ya da primordiyal foliküllerde meydana gelen DNA hasarı atreziyi hızlandırarak, foliküler havuzun hızla azalmasına neden olabilir (17). Hastanın yaşı, RT'nin şekli ve dozu POF gelişiminde etkilidir (61). Puberte öncesinde maruz kalınan RT, ileri yaşlara göre POF açısından daha az risk teşkil etmektedir (62). Aynı şekilde direk olarak pelvisin hedef alınmadığı ve bölünmüş dozlarda verilen RT protokolleri POF açısından daha az risk taşımaktadır (63).

Wallace ve ark.'nın (64) bir çalışmasında insanda primordiyal foliküller için ilk olarak belirlenen median letal doz 4 Gray (Gy) altında iken, daha sonra aynı grup tarafından yeni matematiksel modellemeler ile bu değer <2 Gy'in altına çekilmiştir. RT alan hastaları ovaryan hasardan korumak için çeşitli yöntemleri sürülmüştür. Overlerin cerrahi olarak başka bir bölgeye naklinin (ovaryan transpozisyon) ve GnRH analoglarının kullanımının ovaryan fonksiyonlardaki kaybı azalttığı bildirilmiştir (65-66). Ovaryan transpozisyon yolu ile overleri RT sahasından uzaklaştırılan hastaların %60-100'ünde over fonksiyonlarının korunduğu gösterilmiştir (67). Kriyoprezervasyon ise diğer bir seçenektir. Ancak uygulama protokollerindeki ve ekipmanlardaki tüm gelişmelere rağmen RT kanser tedavisi alan hastalarda POF gelişimi açısından en önemli risk faktörü olmaya devam etmektedir (54).

Pelvik cerrahilerin POF'a yol açma mekanizmasında, ovaryan kan akımının bozulması ya da pelvik bölgede inflamasyon rol alır. Geçirilmiş tek taraflı oofektomi öyküsünün erken menapoz riskini artırdığı bildirilmiştir (68). Bu durum, direk olarak folikül havuzundaki azalmadan kaynaklanabileceği gibi, ovaryan kan akımının azalması ve pelvik inflamasyon gibi indirekt faktörlerin neden olduğu ovaryan hasardan da kaynaklanabilir. Uterin arter embolizasyonunun da overlerin vasküler desteğini azaltarak POF'a neden olabileceği bildirilmiştir (69). Overler korunarak histerektomi yapılmış hastaların ortalama menapoz yaşının (45.4 ± 4.0) opere olmamış kadınlara göre (49.5 ± 4.04) anlamlı ölçüde daha düşük olduğu bildirilmiştir (70). Endometrioma ve pelvik endometriozis nedeniyle ovaryan cerrahi geçirmek de menapoz yaşına ve POF riskine etki etmektedir. Bir kohort çalışmada bilateral ovaryan endometriozis cerrahisinin POF'a neden olabileceği bildirilmiştir (71). Diğer çalışmalar da ovaryan endometrioma cerrahisini azalan serum AMH ve ovaryan rezerv ile ilişkili bulmuştur (72-73).

Çevre ve yaşam tarzının reproduktif yaşlanma üzerine etkisi hakkında henüz yeterince kanıt elde edilememekle birlikte, bu alan pek çok çalışmaya temel oluşturmuştur. Üzerinde en çok çalışılan çevresel toksin ise hiç şüphesiz sigaradır.

Sigara dumanı polisiklik aromatik hidrokarbonlar, nitröz bileşikler, aromatik aminler, nikotin ve protein pirolizatların karışımından oluşmaktadır. Bunlardan esas olarak poliaromatik hidrokarbonların folikül gelişimi olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Sigara, primordiyal foliküllerde hasarlanmaya yol açarak, östrojenlerin hepatik metabolizmasını hızlandırarak ve hipotalamohipofizer aks üzerine etki göstererek hormonal dengesizliğe neden olmaktadır (74). Sigara ile POF arasında kesin bir bağlantı gösterilmemiş olmakla birlikte, sigara içenlerin içmeyenlerden ortalama 1-4 yıl önce menapoza girdiği bildirilmiştir (54). Yapılan bir çalışmada, 8 hafta boyunca sigara dumanına maruz bırakılan farelerin primordiyal folikül sayısında ve over hacminde anlamlı ölçüde azalma olduğu saptanmıştır (75). Fareler üzerinde yapılan diğer bir çalışmada ise, intrauterin dönemde sigara dumanına maruz kalan dişi yavruların primordiyal folikül sayılarında azalma olduğu tespit edilmiştir (76). Pokoradi ve ark.'nın 5113 postmenopozal hastada yaptıkları sağlık anketinde 15 paket/yıl ve daha fazla sigara kullanımının erken doğal menapoz grubunda diğer gruba göre anlamlı oranda yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada sigara kullananlarda ortalama menapoz yaşı 45,6 yıl iken sigara içmeyenlerde 46,9 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada doğal menapoz yaşının haftalık alkol tüketimi, fiziksel aktivite ve 30 yaşındaki vücut kitle endeksi veya parite ile ilişkisi bulunmamıştır (77).

Ağır metaller, çözücüler, böcek ilaçları, plastikler ve endüstriyel kimyasallar ile yapılan çalışmalarda tutarlı sonuçlara ulaşılamamıştır (78). Ancak, vinilsiklohekzen ve onun diepoksit metabolitinin, farelerde ve sıçanlarda primordiyal ve primer foliküllerin selektif hasarına yol açarak POF'a neden olduğu bildirilmiştir (79-80). Toksikitesi 1940'lı yıllarda henüz bilinmeyen, elektronik sektöründe kullanılan 2-bromopropan adlı çözücüye maruz kalan 25 kadından 16'sının amenore şikayeti ile başvurması üzerine, yapılan inceleme ve hormon tetkikleri sonucu hastalara POF tanısı konulduğu bildirilmiştir (81). Gonadların hastalık sürecine dâhil olduğu bazı enfeksiyöz hastalıklar da POF' a neden olabilir. Kadınlarda, adölesan dönem sonrasında geçirilen kabakulak

enfeksiyonunun overleri tutma eğiliminde olduğu ve kabakulak geçiren kadınların %3-7'sinde POF gelişebileceği bildirilmiştir (17). Bu hastaların çoğunda enfeksiyonun iyileşmesini takiben ovaryan fonksiyonlar geri dönmektedir (82). Malarya(sıtma), varicella (suçiçeği) ve shigella enfeksiyonlarını takiben gelişen POF vakaları bildirilmekle birlikte, bu enfeksiyonlarla POF arasında bir neden-sonuç ilişkisi kurulamamıştır (83). Sitomegalovirüs enfeksiyonunun da immüsuprese hastalarda POF etkeni olabileceği bildirilmiştir (84).

POF'da hastaların %10-20'sinde organa spesifik bir otoimmün hastalık tabloya eşlik eder (85). POF ile ilişkili olarak çok sayıda endokrin (tiroidit, adrenal hastalıklar, hipoparatiroidi, diabetes mellitus ve hipofizit) ve endokrin dışı (kronik kandidiyazis, idyopatik trombositopenik purpura, vitiligo, alopesi, otoimmün hemolitik anemi, pernisiyoz anemi, sistemik lupus eritematozis, romatoid artrit, Crohn hastalığı, Sjögren sendromu, myasthenia gravis, primer biliyer siroz, kronik aktif hepatit) otoimmün tablo rapor edilmiştir (86,87).

Endokrin otoimmün ovaryan yetmezlik, Addison hastalığına da eşlik edebilmektedir. Otoimmun Addison hastalığı ile en önemli klinik ilişki otoimmun poliendokrin sendrom (APS) bağlamındadır. Addison hastalığı ve APS tip 2'nin POF'a predispozisyonu bilinmektedir ve bu hastalığa sahip kadınlar bilgilendirilmeli ve POF açısından taranmalıdır. Otoimmun POF'lu hastalarda adrenal otoimmun orjin hastaların %60-80'de izlenen en sık tiptir (88). Alta yatan mekanizmanın over ve adrenaller arasındaki otoimmün antikorların benzerliği olduğu düşünülmektedir. Ancak otoimmün kaynaklı POF'da, çoğu zaman anti-ovaryan antikorların varlığı söz konusudur. Literatürde FSH reseptörü, LH reseptörü, zona pellusida ve diğer bazı ovaryan antijenlere karşı oluşan ovaryan antikorlar bildirilmiştir (89). Vücutta bulunan doğal antikorlar ile çapraz reaksiyon vermeleri nedeniyle ovaryan antikor testlerinin üçte bire yakın yalancı pozitiflik oranı vardır (90,91).

POF saptanan kadınların %4-5'inde steroid hücre otoantikoru (*steroid-cell autoantibodies* (SCA) pozitifliği mevcuttur (24). Otoimmun Addison hastalığı olan kadınların izole adrenal yetmezlik veya APS-2 olanların %8-20'sinde ve

APS-1 olan kadınların %40-60'ında SCA pozitifliği bulunmaktadır. Addison hastalığı olan kadınlarda dolaşımında POF klinik tanısından yıllar önce bile saptanabilen SCA gelecekteki POF gelişimini predikte etmek için kullanılabilir. Otoimmün Addison hastalığında devam eden adrenal otoimmün süreçte 21-OH antikor varlığı sabit olduğu için tüm hastalarda SCA bakılmalıdır. Buna karşın POF saptanan tüm hastalarda ise olası subklinik veya latent Addison hastalığı nedeniyle adrenokortikal antikor (ACA) ve/ veya 21OH-Antikor ölçümü yapılmalıdır (92).

İdiopatik POF hastalarında, periferik kandaki aktive olmuş T hücre sayılarında artış olduğu bildirilmiştir (86). Ancak postmenapozal kadınlarda aktif T hücre sayısında artış olduğu ve östrojen replasmanı ile aktif T hücre sayısının azaldığı gösterilmiştir. Dolayısıyla aktif T hücre sayısındaki artışın ovaryan yetmezliğin sebebi mi, yoksa bir sonucu mu olduğu netlik kazanmamıştır (93).

Tiroidin otoimmün hastalıkları, en sıklıkla da Hashimoto tiroiditi tanısında POF'lu hastaların %14-27'sinde mevcuttur (86,94). Bu nedenle hastaların tirotropin seviyeleri ve tiroid peroksidaz antikorları (TPO-Ab) açısından incelenmesi yararlı görülmektedir (18). Günümüzde otoimmün tiroiti saptamak için en sensitif analiz TPO-Ab'dir (95). TPO-Ab taraması nedeni bilinmeyen veya immün nedenden şüphelenilen tüm POF hastalarında uygulanmalıdır. TPO-Ab pozitifliği olan tüm hastalarda yıllık TSH ölçümü önerilmektedir.

Mekanizması bilinmemekle birlikte, POF'da oküler yüzey hastalıklarının sıklığı artmıştır. Kuru göz sendromu insidansının POF hasta grubunda kontrol grubuna göre artmış olduğu bildirilmiştir. Bu oran POF grubunda %20 , buna karşın kontrol grubunda %3 olarak bildirilmiştir. (96).

2.1.5. Klinik

Ovaryan yetmezliğin gelişimi, ooferektomi, RT ya da KT'den kaynaklanmadığı sürece yıllar sürebilir. Yaklaşmakta olan ovaryan yetmezliğin spesifik bir belirteci tariflenmemiştir. Süreç genelde gizli ovaryan yetmezlik olarak da adlandırılan subfertilite ile başlar. Daha sonra FSH düzeyinin arttığı

biyokimyasal yetmezlik denilen sürece girilir. Sonraki aşamada menstrüasyon kanamaları azalır ya da kaybolur ve vazomotor semptomlar ortaya çıkabilir (97). Hastaların yaklaşık yarısında adetler tamamen kesilmeden önce doğal menapozda olduğu gibi oligomenore, polimenore ya da disfonksiyonel uterin kanamaların olduğu bir prodromal dönem görülmektedir. Ancak pek çok hastada gonadal yetmezliği gizleyen bir gebeliğin ya da hormonal kontrasepsiyonu bırakmanın ardından hızlı biçimde amenore gelişebilir (18).

Vakaların çoğunda ovaryan yetmezlik normal puberteyi takiben sekonder amenore şeklinde ortaya çıkar (98). Çarpıntı, sıcak basması, gece terlemesi, vajinal kuruluk gibi östrojen eksikliğine bağlı bulgular bu grup hastalarda primer amenore grubuna göre çok daha sık görülür.

Çoğu primer ovaryan yetmezlik vakası sporadik olmakla birlikte vakaların %10-15'inde pozitif aile öyküsü vardır (99). Bu nedenle hastalar aile öyküsü ve otoimmün poliglandular sendroma işaret edebilecek semptomlar (hipotiroidizm, hipoparatiroidizm, adrenal yetmezlik) açısından sorgulanmalıdır. Aile öyküsünde Frajil X sendromu, zihinsel engellilik, demans, tremor, ataksi ya da Parkinson hastalığına benzer şikâyetlerin olması FMR1 geni premutasyonu olabileceğine işaret eder. Fizik muayenede hipopigmentasyon ve vitiligo olması otoimmün adrenal yetmezliği; kısa boy, yele boyun, yüksek damak gibi bulgular ise Turner sendromunu akla getirmelidir (18).

POF hastaları, klinikte multidisipliner bir yaklaşımla ele alınmalıdır. Hastaların karşı karşıya kaldıkları psikolojik gerilim, hastalığın doğal sonucu olan infertilite ve hormonal yetmezliğe bağlı uzun dönemde ortaya çıkabilecek sağlık sorunları açısından hastalar dikkatli yönetilmelidir.

2.1.6. Uzun Dönemde Ortaya Çıkan Sonuçlar

POF'un uzun dönem etkilerini inceleyen az sayıda randomize kontrollü çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların çoğu gözlemseldir ve ağırlıklı olarak cerrahi menapoz hastalarında yapılmıştır. Ancak uzun dönem etkiler POF'un etiolojisine göre farklılık gösterebilmektedir. Örneğin cerrahi POF hastalarında östrojen ve

androjenlerde ani bir kesilme söz konusu iken; idyopatik POF hastalarında östrojen seviyelerinde yıllar süren bir dalgalanma görülmekte ve overler androjen öncüllerini üretmeye devam etmektedirler (100).

2.1.6.1. Yaşam Beklentisi

Yaklaşık 20.000 kadını içeren prospektif bir kohort çalışmada 40 yaşından önce ve 50-54 yaşları arasında menapoza girmiş kadınlar karşılaştırılmış, tüm nedenlere bağlı mortalitenin 40 yaş altı menapoz grubunda anlamlı olarak daha yüksek olduğu ve bu grupta beklenen yaşam süresinin geç menapoza giren gruba göre 2 yıl daha kısa olduğu bildirilmiştir (101). ‘The Mayo Clinic Cohort Study of Oophorectomy and Aging’ çalışmasında 45 yaşından önce ooferektomi yapılan kadınlarda mortalite kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur (102). Mortalitedeki artış 45 yaşına kadar HRT almayan hastalarla sınırlı olduğundan, östrojenin mortalite üzerine olumlu etkisi olabileceği bildirilmiştir.

2.1.6.2. Kardiyovasküler Hastalık Riski

Aynı yaş grubu erkeklerle karşılaştırıldığında, premenapozal kadınlarda kardiyovasküler hastalığa bağlı ölüm riski daha düşüktür. Bu risk farkı uzun zamandır endojen östrojen faktörü ile açıklanmaktadır. Erken menapozun kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite riski ile ilişkisi yıllar önce ortaya konmuştur. Kırk yaşından önce menapoza giren hastalarla 49-55 yaş arasında menapoza giren hastalar karşılaştırıldıklarında erken menapoz grubunda kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite riskinde %80 artış olduğu bildirilmiştir (103). Ayrıca 45 yaşından önce ooferektomi yapılan ve HRT kullanmayan hastalarda kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite riskinin anlamlı biçimde yükseldiği ve östrojen replasmanının riski azaltabileceği de yine bu çalışmada bildirilmiştir (103). POF’da endotel fonksiyonlarının ateroskleroza zemin hazırlayacak biçimde bozulduğu gösterilmiştir (104). Erken yaşta ve fizyolojik yaşta menapoza giren 12.000 doğal menapozlu kadınla yapılan kohort çalışmada erken menapoza giren grupta kardiyovasküler mortalitenin anlamlı biçimde arttığı

gösterilmiştir (105). Çok sayıda farklı gözlemsel çalışmada postmenapozal kadınlarda östrojen replasmanın kardiyovasküler hastalık riskini %35-50 oranında azalttığı bildirilmiştir (106,107).

Östrojen replasmanının POF hastalarında endotel fonksiyonlarını yeniden olumlu yönde değiştirdiği bildirilmiştir (104). Ancak endotel fonksiyonlarındaki bu olumlu değişimin kardiyovasküler mortalite riskine ne şekilde yansıdığı henüz ortaya konmamıştır. ‘Women’s Ischaemia Syndrome Evaluation (WISE)’ çalışmasından elde edilen yeni sonuçlar düşük E2 seviyesinin premenapozal kadınlarda da artmış kardiyovasküler hastalığa bağlı mortalite riski ile birliktelik gösterdiğini ortaya koymaktadır (108).

2.1.6.3. Osteoporoz

Östrojen; kemiğin ‘remodelling’ sürecinde önemli rol oynar. Östrojen eksikliği, osteoblast/osteoklast aktivitesi dengesinde osteoklastlar lehine bir bozulmaya ve trabeküler kemiğin ilerleyici kaybına neden olmaktadır. (109). POF’lu hastaların kontrollerle karşılaştırıldığında kemik yoğunluğunun anlamlı biçimde daha düşük olduğu ve bunun da artmış kırık riski ile birliktelik gösterdiği bildirilmiştir (110).

Amarante ve ark.’nın 2011 yılında yaptıkları 32 POF hastasını içeren çalışmada aynı yaş grubu ile karşılaştırıldıklarında, POF hastalarında osteoporoz sıklığının ve şiddetinin hem premenapozal hem de fizyolojik yaşta menapoza girmiş postmenapozal hastalardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (111).

Menapoza bağlı en hızlı kemik kaybı, menopozun ilk 5 yılında meydana gelir ve kayıp hızı daha sonra plato çizme eğilimindedir. Osteoporoz riski menopoz yaşına bağlı olarak da değişmektedir. Bu nedenle, maksimum kemik dansitesine ulaşmadan (geç yirmili yaşlarda ulaşıldığı düşünülmektedir) menopoza girmiş olan POF hastalarında osteoporoz riski ve şiddeti daha büyüktür (112).

2.1.6.4. Bilişsel Fonksiyonlar

Östrojen bilişsel fonksiyonlar üzerine olumlu etkiler göstermektedir (113,114). Bir çalışmada, östrojenin kolinerjik ve serotonerjik sistemlerle etkileşime geçerek, hipokampus ve ön kortikal beyin fonksiyonları üzerine etki gösterdiği ortaya konulmuştur (115).

'The Mayo Clinic Cohort Study of Oophorectomy and Aging' çalışmasında premenapozal yaşlarda ooforektomi yapılan hastalarda bilişsel bozuklukların ortaya çıkma riski incelenmiştir. Çalışmada menapoz öncesi ooforektomi yapılan hastalarda kontrol grubuna göre bilişsel bozukluk ve demans riskinin arttığı ve risk artışının erken yaşta ooforektomi yapılan hastalarda daha fazla olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada 50 yaşına kadar devam edilmesi durumunda östrojen replasmanının bilişsel fonksiyonlar üzerine koruyucu etkisinin olduğu da bildirilmiştir (116). Kırk yaş altı hasta grubu ve spontan POF grubunda ise literatürde henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır.

2.1.6.5. Ruh sağlığı

Fizyolojik yaşta meydana gelen menopoz, kadınlar tarafından çoğu zaman gelişimin beklenen ve doğal bir sonucu olarak algılanabilir. Çünkü doğal menopoz, pek çok kadın için planladıkları reproduktif hedeflere ulaştıkları bir zamanda meydana gelmektedir. Ancak POF, tam da kadınların çocuk sahibi olma planları yaptıkları periyotta ortaya çıkan bir tablo olduğundan hasta psikolojisini etkilemesi kaçınılmaz olmaktadır.

İnfertilite kliniğine başvuran çiftler üzerinde yapılan bir çalışmada, infertil kadınların öfke, endişe ve depresyon skorlarının toplum ortalamasına göre daha yüksek olduğu, erkek partnerde skorların kadın partnerdeki kadar yüksek olmamakla birlikte yine toplum ortalamasının üzerinde olduğu gösterilmiştir (117). Diğer bir çalışmada, medikal tedavi gerektiren depresyon görülme sıklığı 46 yaşından sonra menapoza girmiş hasta grubunda % 6, iken POF grubunda % 14 olarak bildirilmiştir (118).

POF teşhisinin hasta psikolojisi üzerine çok önemli etkileri olmakla birlikte, hasta yönetiminde bu husus çoğunlukla ihmal edilebilmektedir. Artmış anksiyete, depresyon, somatizasyon ve psikolojik stres; azalmış total iyilik hali ve kendine güven gibi psikolojik durumlar POF hastalarında sıklıkla ve uzun süre görülebilmektedir (119).

2.1.6.6. Cinsel Sağlık

Seksüel disfonksiyon, seksüel cevap döngüsünün (arzu, uyarım, orgazm ve gevşeme) bir ya da daha fazla aşamasında olumsuzlukların olması ya da cinsel ilişki sırasında sürekli veya tekrarlayan ağrı oluşması olarak tanımlanmaktadır (120). POF hastalarında cinsel mutluluğun azaldığı; azalmış uyarım, azalmış cinsel ilişki ve artmış ağrı hissine bağlı cinsel tatminin azaldığı gösterilmiştir (119). Daha genç yaşta tanı alan hastalarda psikoseksüel bozukluklar daha fazla görülmektedir (121).

POF'da östrojen eksikliğinin yanı sıra ovaryan korteks atrofisine bağlı olarak androjen kaybı da gelişmektedir (122). Yapılan çalışmalarda normal cinsel fonksiyon için gerekli olan androjen sentezinin POF hastalarında anlamlı biçimde düştüğü gösterilmiştir. (123,124). POF hastalarında seksüel disfonksiyona yaklaşımda, hastaya yeterli östrojen ve androjen replasmanının yanında cinsel danışmanlık desteği de verilmelidir.

2.1.7. Tedavi ve Hasta Yönetimi

2.1.7.1. Hormonal Tedavi

POF hastalarında hormonal tedavi hastanın yaşı, cinsel maturasyonunun derecesi, amenorenin süresi, amenorenin primer mi sekonder mi olduğu ve hormonal tedavi için risk oluşturacak faktörlerin varlığı gibi unsurlar açısından optimize edilmelidir. Hormonal tedavideki temel amaçlar pubertal gelişimin sağlanması, östrojen eksikliğine bağlı semptomların giderilmesi ve POF'a bağlı oluşacak uzun dönem sekellerin minimalize edilmesidir. Hastanın yaşı ile birlikte

hormonal tedavi ihtiyacının ve tedavinin risk/yarar oranının değişebileceği de dikkate alınmalıdır (125). Primer amenore ile ortaya çıkan POF kliniği, sekonder seks karakterlerinin olmaması ve düşük kemik mineral dansitesi (KMD) ile karakterizedir. Gecikmiş puberte için önerilen hormonal tedavi şemaları birbirinden oldukça farklıdır. Pubertede gecikme görülen hastalarda tedaviye ne zaman başlanacağı tartışmalı bir konudur. Ancak eğer hasta ve ailesi psikolojik olarak hazırsa, tedaviye 12-13 yaşlarında başlanması hasta ve yaşlıları arasındaki pubertal gelişim farklılıklarını azaltmak için faydalıdır. Tedavinin ana hatları düşük dozdan başlanıp (25 mcg transdermal östrodiol-17 ya da 0.3 mg oral konjuge östrojen), kademeli olarak yükseltilecek östrojen tedavisi, eş zamanlı olarak sekonder seks karakterlerinin gelişiminin gözlenmesi ve sonraki aşamada endometriyumu korumak, aynı zamanda da düzenli çekilme kanamalarını sağlamak için siklik progesteronun eklenmesinden oluşmaktadır (126). Progesteron tedavisine, östrojene başlanmasının ardından 6 ay içerisinde, kırılma kanaması gerçekleştiğinde başlanmalı ve ayda en az 12 gün verilmelidir (127).

Pubertal gelişimini tamamlamış, sekonder amenore ile başvuran hastalara kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak, vazomotor semptomları kontrol altına almak için standart hormonal tedavi başlanır. Etiyolojiye bağlı olarak bir grup POF hastasında ovaryan fonksiyonlarda geri dönüş olabilmektedir. Hormon replasman tedavisi alan hastalarda ovaryan fonksiyonların yeniden test edilebilmesi için 3-4 haftalık ilaçsız dönem yeterli olmaktadır (14). İatrojenik olmayan POF hastalarında henüz amenore gelişmeden önce de ovaryan fonksiyonlardaki azalmaya paralel olarak kemik yoğunluğunda azalma başlamaktadır. Bu nedenle amenore geliştiğinde çoğu zaman KMD'de de düşüş tespit edilebilmektedir (126). Hastaların %50'sinde tanıyı takip eden ilk 18 ay içerisinde anlamlı derecede düşük KMD tespit edilir ve üçte ikisi kalça kırığı için risk oluşturacak derecede düşük KMD değerlerine sahiptir (128). POF tanısının konulması pek çok hastada yıllar alabildiğinden, hormonal tedavi başladığında çoğunlukla anlamlı derecede osteoporoz gerçekleşmiş durumdadır. Primer amenore ile gelen hastalarda KMD değerleri tedaviye rağmen sağlıklı

popülasyondaki tepe değerlerine ulaşmayabilmektedir (125). Sekonder amenore ile başvuran POF hastalarında hormonal tedaviye düşük doz östrojen ile başlanması hasta uyumunu artırmaktadır. Doz, altı ay içerisinde idame dozuna yükseltilebilir. Histerektomi operasyonu geçirmemiş kadınlarda yeterli progesteron desteği endometriyal hiperplazi ve kanserden korumak için gereklidir. Hastalara hormonal tedavinin kontraseptif bir metod olmadığı ve gebelik riskinin var olduğu anlatılmalıdır. Gebelik isteği olmayan hastalara oral kontraseptif kullanımı alternatif olarak sunulabilir. Kemik yoğunluğunun oluşumu ve sürdürülebilmesi için androjenler de gereklidirler (129). Androjenler etkilerini direk olarak osteoblastlardaki androjen reseptörü üzerinden ya da dolaylı olarak östrojene aromatize olarak gösterirler. POF hastalarında endojen androjen seviyeleri düşük olduğu için androjen desteği kemik gelişimi ve korunmasını olumlu yönde etkilemektedir (126).

Androjen eksikliğinin düşük libido, genital uyarımda azalma, orgazm problemi, genel iyilik halindeki azalma ve motivasyon güçlüğü gibi problemlerin önemli bir nedeni olduğu düşünülmektedir (121). Seksüel uyarılabilirliğin tekrar sağlanması östrojen, testosteron veya dehidroepiandrosteron (DHEA) ile birlikte kullanımı ile başarılı biçimde sağlanabilir. Testosteron dozunun uygun şekilde ayarlanması ile normal kas kitlesinin korunması istenmeyen metabolik etkilere ve virilizasyona sebep olmaksızın sağlanabilir. POF hastaları doğal olarak daha uzun sürecek bir hormon replasman tedavisine ihtiyaç duymaktadırlar. Bu nedenle hormon replasman tedavisindeki son gelişmeler ışığında uzun süreli replasmanın faydalarını ve potansiyel risklerini değerlendirebilmek için hastaların tedavinin etkileri açısından yakın biçimde izlenmesi gerekmektedir (125).

2.1.7.2. Dehidroepiandrosteron

Reproduktif tıptaki en tartışmalı konulardan birisi de azalmış ovaryan fonksiyonların farmakolojik olarak tekrar iyileştirilmesinin gerçekten mümkün olup olmadığıdır. Dünyadaki IVF merkezlerinin yaklaşık üçte biri tarafından

kullanılan DHEA desteğinin neden daha yaygın olarak uygulanmadığı sorusunun cevabı belli değildir. (130).

DHEA, foliküler sıvıdaki testosteronun %48'i için prehormon olarak görev yapmaktadır. DHEA tedavisi verilen farelerin preantral ve erken antral foliküllerinde IGF-1 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (131). DHEA'nın ovulasyon indüksiyonuna olan etkilerinin IGF-1 artışı üzerinden gerçekleştiği ileri sürülmüştür. (132). DHEA desteğinin oosit ve embriyo kalitesini iyileştirerek gebelik şansını artırdığına dair çalışmalar mevcuttur (133). DHEA desteğinin anöploidi ve buna bağlı düşük oranlarını da azalttığı gösterilmiştir (134). DHEA kullanımını takiben çok düşük over rezervine sahip olan 30 hastada gebelik elde edildiğini bildiren bir vaka serisi yayınlanmıştır (135).

DHEA'nın IVF siklus başarısı üzerine etkisini inceleyen 25 hastalık bir vaka kontrol çalışmasında IVF siklus öncesi yaklaşık 16 hafta DHEA kullandırılan grupta fertilize oosit sayısı, 3. gün embriyo sayısı, transfer edilen embriyo sayısı ve oosit başına embriyo skorunun anlamlı olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir (136). Mamas ve ark. (137) tarafından DHEA kullanan 5 POF hastasının klinik sonuçları yayınlanmıştır. Bu hastalardan, 9 aylık amenore öyküsü ve FSH değeri 102 mIU/ml olan hastaya ovum donasyonu önerilmiş ve öncesinde endometriyal kalınlığı sağlamak için DHEA başlanmıştır. İlginç bir biçimde, yaklaşık 2 aylık tedavinin ardından hastanın menstrüasyonunun geri döndüğü ve üçüncü ayda hastanın doğal yoldan gebe kalarak sağlıklı biçimde doğum yaptığı bildirilmiştir. Diğer 4 hasta, 3-6 ay boyunca DHEA kullanmış, hastaların FSH değerlerinde anlamlı azalma kaydedilmiştir. Bu hastaların da üçünün doğal yolla, bir tanesinde ise intrauterin tuboperitoneal inseminasyon yolu ile gebe kalabildiği bildirilmiştir.

İleri derecede bozulmuş oosit kalitesinin farmakolojik olarak geri döndürülemeyeceği kabul edilmektedir. DHEA'nın oosit gelişimine olan etkisinin direk oosit üzerine değil, indirek bir etki olduğu ve bu etkinin foliküler maturasyonun erken aşamalarında gerçekleştiği düşünülmektedir (130). Teorik olarak, oositler gelişim için uyarılmadığı sürece yaşlanma sürecine girmezler.

Yani uyarılmayan oositler kalitelerini korur. Sadece seçilen ve maturasyon sürecine giren oositler kötü ovaryan çevrenin etkisi ile kalitelerini kaybetme riski altındadırlar. Yaşlanan ovaryan çevre kavramı içerisinde değerlendirildiğinde DHEA'nın etkileri daha mantıksal bir çerçeveye oturmaktadır (130). Çünkü sağlıklı bireylerde dahi yaşla birlikte DHEA düzeyinin azaldığı gösterilmiştir (138). DHEA tedavisi ile ilgili bildirilen olumlu sonuçlar, az sayıdaki vaka kontrol çalışmaları ve vaka serilerinden gelmektedir. Bu nedenle bu konuda yüksek hasta sayılarına sahip, randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

2.1.7.3. Fertilitenin Sağlanması

Spontan gebelik ihtimalinin %5-10 oranında da olsa bulunması POF hastaları için bir şans olmakla birlikte bu oranı artırmak ve ovaryan fonksiyonları düzeltmek için henüz kesin bir tedavi geliştirilememiştir. Bu durum karşısında, kimi hastalar evlat edinme, kimileri reproduktif tekniklerden yararlanma, kimileri de düşük de olsa spontan gebelik şanslarını deneme yoluna başvurumaktadırlar. Ovaryan fonksiyonlardaki geri dönüşler geçici ve öngörülemez olduğu için cinsel birlikteliğin zamanlanması konsepsiyon oranlarını artırmakta faydasızdır. Gebelik istemi olan hastalara haftada 2-3 kez cinsel birliktelik önerilmelidir (21).

Eldeki veriler POF'da FSH düzeylerinin etinilöstrodiol ve GnRH analogları ile baskılanmasının ardından düşük doz gonadotropin ile ovulasyon sağlanmasının gebelik elde edimi için uygun yöntem olduğunu göstermektedir (139). Ancak FSH baskılanmasının folikül gelişimi şansını artırdığına dair yeterince güçlü, prospektif çalışmalar yoktur (16). POF hastalarında otoimmün bozuklukların varlığı immüsupresif tedavilerin ovaryan fonksiyonları iyileştirebileceği yönünde bir düşünce oluşmasına yol açmıştır. GnRH analogu ve gonadotropin kombinasyonuna dekzametazon eklenen grupta eklenmeyen gruba göre ovulasyon oranlarında artış olduğu bildirilmiştir. Ancak bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır (4).

Kriyoprezervasyon tekniklerindeki gelişmeler kanser tedavisi nedeni ile POF gelişme riski olan kadınlarda fertilitenin korunması için umut verici olmuştur.

Kanser tedavisi öncesinde ovaryan doku saklanması olan ilgi hızla artmakla beraber ovaryan dokunun ootransplantasyonu ile literatürde elde edilmiş sadece 6 sağlıklı doğum bildirilmiştir (16). Yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, alınan dondurulmuş dokularda greftleme sonrası hipoksi ve foliküler büyümenin hiperaktivasyonu nedeni ile primordiyal foliküllerde hızlı bir kayıp gerçekleştiğini göstermektedir. Boş folikül ve anormal oosit oranlarındaki artışa bağlı olarak ootransplantasyon yapılan hastalarda embriyo transfer oranları da düşük olmaktadır (16).

Postpubertal hastalarda kanser tedavisi öncesi ovaryan doku saklamaya diğer bir alternatif, ovaryan stimülasyon sonrası oosit ve embriyo saklanmasıdır. Oosit, embriyo ve over dokusunda yavaş planlanmış dondurma yerini artık vitrifikasyon yöntemine bırakmaktadır. Ancak bu yöntemde de oosit nitrojen ile direk temas halinde olduğu için bakteriyel, fungal ya da viral kontaminasyonun söz konusu olabileceği bildirilmiştir (16). In-vitro folikül gelişimi ve oosit maturasyonu konusunda henüz az bir ilerleme kaydedilebilmiştir. Bu yöntem, oositler luteal fazda toplandığı için ovaryan stimülasyonu gereksiz kılmaktadır ve kemoterapi gereken ancak ovaryan stimülasyon için vakti olmayan hastalar için özellikle uygundur. (16).

2.1.7.4. Kontrasepsiyon

POF'da spontan gebelik ihtimali olduğundan, istenmeyen gebeliklerin önüne geçmek için uygun korunma yöntemlerine ihtiyaç vardır. Standart oral kontraseptifler bu amaçla zaman zaman reçete edilse de, bunlar fizyolojik replasman için gerekli olandan daha fazla miktarda sentetik steroid hormon içerdiklerinden ideal seçim değildirler (21). Ayrıca yedi günlük ilaçsız dönem POF hastalarında gereksizdir ve bu boşluk semptomlarda geri dönüşlere neden olabilir. Etinilöstrodiolun FSH düzeylerini konjuge östrojenden daha iyi baskıladığını gösteren kanıtlar olmakla birlikte, konjuge östrojenlerin kardiyovasküler risk parametreleri üzerine etkisi daha güçlüdür (140).

Ancak düşük doz oral kontraseptifler osteoporozun önlenmesinde daha az etkili olabilir ve POF hastaları için kontraseptif metot olarak güvenilirliği şüphelidir (21). Henüz yeterli destekleyici veri olmamakla birlikte, kontrasepsiyon istemi olan hastalara levonorgestrelli intrauterin sistemler önerilebilir (14).

2.2. Ağır Metaller ve Üreme Sağlığı Üzerine Etkileri

Ağır metal tanımı fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm³'ten daha fazla olan metaller için kullanılır. Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa, arsenik ve çinko olmak üzere 60'tan fazla metal dâhildir. Tıpta ağır metal tanımı daha geniştir ve atomik ağırlıklarına bakılmaksızın tüm toksik metalleri içerir (141). Ağır metaller yer kabuğunda genellikle doğal olarak bulunan bileşiklerdir. Bozulmaz ve yok edilemezler. Antik çağlarda bu metallerin cevherleri işlenmeye başlandığından beri metaller insan faaliyetleri sonucu olarak doğal çevrimleri dışında doğaya yayılmaya başlamıştır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri etkilerini bilmeden; taktı, silah, su borusu üretimi vb. çeşitli amaçlar için kullanmıştır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması ile endüstri bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmıştır. Günümüzde kâğıt sanayi, çimento üretimi, petrokimya, klor-alkali üretimi, gübre sanayi, demir-çelik sanayi, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma işlemi, termik ve nükleer enerji üretiminin farklı işlem kademelerinden biyosfere ağır metal atılımı gerçekleştiği bilinmektedir (142).

Havaya atılan ağır metaller, sonuçta karaya ve buradan da bitkiler ve besin zinciri yoluyla da hayvanlara ve insanlara ulaşır. Aynı zamanda insan ve hayvanlar tarafından havadan aerosol olarak veya toz halinde solunurlar. Ağır metaller endüstriyel atık suların, içme sularına karışması yoluyla veya ağır metallerle kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yoluyla da insanlar ve hayvanlar üzerinde etkin olurlar. Ayrıca sanayileşmeye paralel olarak kırdan kente doğru göçlerin yaşanması toksik metallerin insan maruziyeti boyutlarının da giderek artmasına neden olmaktadır.

İz elementler gibi bazı ağır metaller (örneğin bakır, selenyum, çinko) ise insan vücudunun metabolizmasını sürdürmek için elzemdir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda toksik olabilirler. Bunun yanı sıra metabolizma için gerekli olmayan kurşun, kadmiyum, civa ve arsenik gibi metaller düşük konsantrasyonlarda bile hücresel düzeyde toksik etkiler gösterebilirler.

Ağır metallerin belirli bir zaman aralığında canlı organizmada diğer metallere kıyasla birikiminin fazla olması sağlık üzerine olumsuz etkilerinin daha ciddi boyutlara ulaşmasına yol açmaktadır.

2.2.1. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum yumuşak ve mavimtrak bir metaldir. Nemli havada yavaş yavaş oksitlenir; oksit kararlı olup, metali kaplar. Atom numarası 48 ve atom ağırlığı 112,40g/mol. Kadmiyum 321°C'de erir, 767°C'de kaynar. Oldukça elektropozitifdir. Bileşiklerinde “+2” değerlikli halde bulunur. Kadmiyumun 104Cd ile 118Cd arasında bir seri izotopu mevcuttur. Tabiatta en çok bulunan 110Cd ve 114Cd izotoplarıdır. Kadmiyum mineralleri yer kabuğunun yaklaşık % 0.01'den azını teşkil eder. Kadmiyum elde etmek için işlenen başlı başına bir mineral mevcut değildir. Genellikle minerallerde çinko ile beraber olarak bulunur. En önemli kaynağı, metal sanayinde çinkonun distilasyonla saflaştırılması esnasında çıkan baca dumanlarıdır. Ayrıca kadmiyum, bakır ve kurşunun eritilmesinden elektrolitik metotla çinko elde edilen fabrikalarda litopon artıklarından elde edilebilir. Kadmiyumun en önemli kullanım yeri çelik kaplamacılığıdır. Çünkü çok kolay kaplanır ve oksidasyona dirençli, kararlı bir yüzey meydana getirir. Bilye yatakları gibi sürtünme olan yerler, sürtünmeyi azalttığı için kadmiyumla kaplanır. Nükleer reaktörlerde nötron tutucu olarak, fotoğraf malzemeleri, nikel kadmiyum pilleri, düşük erime noktalı lehim yapımı, akümülatör, boya ve cam üretimi gibi önemli kullanım alanları vardır (143).

Kadmiyum çok toksik bir metal olup, sanayileşmiş toplumlarda en önemli çevre kirleticilerinden biridir. Toplum için en önemli iki maruziyet kaynağı diyet ve tütün içimidir (144). Kadmiyum yaşam boyunca insan vücudunda birikir ve

renal disfonksiyona neden olabilir (145). Renal hasarın yanı sıra akciğer, karaciğer, kemik, over gibi pek çok dokuda kadmiyumun zararlı etkiler oluşturabildiği hayvan deneylerinde gösterilmiştir (146). Kadmiyum üreme sistemi üzerine toksisitesi en iyi bilinen metallere biridir. Laboratuvar hayvanlarında steroidogenez ve spermatogenez bozduğu gösterilmiştir. Androjen ve östrojen reseptörlerine (ER) bağlanabilme özelliği nedeni ile fertilité üzerine etkisine dair yapılan araştırmalar da ilgi uyandırmıştır (147). Nampoothini ve Gupta (148), kadmiyum ve kurşunun, granüloza hücrelerinde steroidojenik enzim aktivitesini düzenleyen gonadotropinlerin bağlanmasında anlamlı biçimde azalmaya neden olduğunu ve böylece infertiliteye yol açtığını göstermiştir.

1. GEREÇ ve YÖNTEM

2014 ile 2015 yılları arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite polikliniklerine başvurmuş ve POF tanısı almış olan hastalar çalışma hakkında bilgilendirilerek alınacak örneklerin bilimsel araştırma amacıyla kullanılacağı bilgisini içeren aydınlatılmış onamları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi. Bu çalışma için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 11/02/2015 tarihli ve 2015/06 protokol kodlu Etik Kurul onayı alındı.

Çalışmaya dâhil edilme kriterleri:

1. 2 ayı siklusta serum FSH düzeylerinin 40 IU/L ve üzerinde olması
2. Hastaların 18-39 yaşları arasında olması

Dışlanma kriterleri

1. Hipotalamus ve hipofiz bezi tümör mevcudiyeti
2. Etiyolojisi bilinmeyen ovaryan büyüme, genişleme, kist varlığı ve polikistik over görünümü
3. Daha önce ovaryan cerrahi geçirmiş olmak
4. Kemoterapi ya da radyoterapi öyküsü
5. Kromozomal bozukluk
6. Klinik olarak belirgin (Tiroid hastalığı, DM) ve çalışma sonuçlarını etkileyebilecek medikal bir durumun varlığı
7. Otoimmün ya da metabolik hastalık öyküsünün olmaması
8. Over, meme ve uterus kanseri varlığı

POF tanısı 40 yaşından önce, en az bir ay ara ile ölçülen iki serum FSH değerinin 40 IU/L üzerinde olması durumuna göre konulmuştur.

35 günden uzun periyotlar ile adet görme oligomenore, üst üste 3 siklus adet görmeme amenore olarak tanımlanıp hastalarda sorgulanmıştır.

3.1. Çalışma Protokolü

Hastaların yaş, gelir düzeyi, öğrenim durumu, yaşadığı yer (şehir /kırsal), medeni hali, menarş yaşı, menopoz yaşı, menopoz süresi, obstetrik öyküsü, emzirme süresi, beslenme alışkanlığı, sigara ve/veya alkol kullanımı, fiziksel aktivite durumu, özgeçmiş, radyoterapi ve/veya kemoterapi maruziyeti, ağır metal maruziyetine sebep olabilecek meslek öyküsü ve aile öyküsünü içeren detaylı bir anamnezi kaydedilmiştir. Sigara kullanımı hastaların günlük tükettikleri paket sayısının kullandıkları yıl ile çarpılması ile hesaplanmıştır (paket yıl).

Boy ve kilo ölçümleri yapılarak Vucüt kütle indeksi (VKİ) aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır:

$$VKİ = \text{ağırlık (kilogram)} / \text{boy (metre)}^2$$

3.2. Hormonal Ölçümler

Plazma FSH, LH, E₂, prolaktin, TSH, T3, T4 düzeyleri kemilüminesans yöntemi ile ölçüldü (Immulite 2000, Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, CA).

3.3. Karyotip Analizi

Hastalardan alınan venöz kanın kültüre edilmesi ile çalışılmıştır.

3.4. Kadmiyum Analizi

3.4.1. Numunelerin alınması ve saklanması

8 saatlik açlık sonrası sabah antekübital venden alınan 2 cc venöz kan EDTA'lı tüplere alınarak analiz gününe kadar -86 santigrat derecede muhafaza edildi.

3.4.1.1. Numunelerin analiz öncesi işlemleri

Örnekler -86 santigrat dereceden alındı ve bir gece boyunca +4 santigrat derecede çözülmeye bırakıldı. Çözülen kandan alınan 1 ml kan örneği 10 ml'lik propilen tüplere koyuldu. Bu 10 ml'lik propilen tüplerdeki kan örneklerinin üzerine 1 ml %65 HNO₃ (Merck) ve 1 ml %35 HCl (Merck) (1:1) ilave edildikten sonra tüpler su banyosunda, 80 °C'de 1 saat bekletildi. Böylelikle tüplerdeki tüm kanın homojenize olması sağlandı. Örnekler oda sıcaklığında soğutulduktan sonra üzerine 10 ml'ye tamamlanacak kadar saf su eklendi.

3.4.1.2. Numunelerin Analiz işlemi

Ölçümler Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (Perkin Elmer AAnalyst 800) cihazı ile yapıldı (Resim). Kadmiyum düzeyleri Grafit Fırın tekniği ile ölçüldü. Grafit Fırın Atomik Absorbsiyon Spektrometresinde yakma ortamında argon (200 ml/min) gazı kullanıldı.

Resim: Atomik Absorbsiyon Spektrometresi (Perkin Elmer AAnalyst 800) cihazı



Perkin Elmer AAnalyst 800 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresinde kadmiyum hallow katod lambası takılıp lamba akımı 4 mA, dalga boyu 228,8 nm, slit 0,7L olarak ayarlandıktan sonra cihaz kalibrasyonuna geçildi. Cihaz kalibrasyonu 1000±3µg/ml (%2 HNO3 içinde Cd) (Custom-Grade) kadmiyum standart çözeltisinden hazırlanan farklı derişimlerdeki çözeltiler ile yapıldı.

Hazırlanan çalışma standart çözeltileri ile cihaz kalibre edildikten sonra 5 ml'lik enjektör ile 1 ml numune alınıp 1,2 ml'lik Sample Cup Viallere dolduruldu. Ardından Sample Cup Vialler Autosampler'a yerleştirilerek cihaz çalıştırıldı. Çalışma cihazın grafit ünitesinde yapıldı. Cihaz her analiz için 20 µl örneği grafit fırın içine enjekte ederek tayini gerçekleştirdi. Her numune için 2 defa analiz yapıldıktan sonra bu iki analizin ortalaması alındı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Araştırma verilerinin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS for Windows versiyon 17.0 yazılımı kullanıldı. Nicel değişkenlerin tanımlanması ortalama (\bar{X})±standart sapma (SS), nitel değişkenlerin tanımlanması ise sayı (n) ve yüzde (%) ile yapıldı. Nicel değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapira Wilk testi ile test edildi. Testin sonucuna göre grupların karşılaştırılmasında unpaired t testi, Kruskal Wallis varyans analizi ve Bonferroni Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

2. BULGULAR

Yaşları 24 ile 39 arasında değişen ($31,7 \pm 4,78$) 35 POF tanısı alan hasta çalışmaya alındı. Kontrol grubu olarak iki grup oluşturuldu. POF tanısı alan hastaların yaşları ile eşleştirilmiş, yaşları 24 ile 39 arasında değişen ($31,7 \pm 4,9$) düzenli adet gören, reproduktif dönemdeki 35 genç kadın bir kontrol grubunu oluştururken; diğer kontrol grubuna doğal menopozda olan yaşları 55 ile 63 arasında değişen ($54 \pm 4,5$) 35 sağlıklı kadın dahil edildi. VKİ açısından hastaların arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,434$).

Gebelik öyküleri sorgulandığında grupların gravida, parite ve yaşayan çocuk oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark varken ($p < 0,001$) abortus oranları açısından bir fark saptanmadı ($p=0,430$). Grupların menarş yaşı karşılaştırıldığında da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,745$). Sigara içme oranları açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=0,470$).

Meslek yönünden incelenen üç grupta hastaların çoğu (%84,76) ev hanımı olup, kadmiyum maruziyetine sebep olabilecek herhangi bir meslekte çalışan kişi bulunmamaktadır ($p=0,095$).

Eğitim düzeyleri açısından her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0,066$).

Ailelerin ekonomik durumları aylık gelirleri 1273,5 TL'nin altı ve üstü olarak sorgulanmıştır. (2015 yılı net asgari ücret temel alınmıştır). Bu açıdan da üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,214$).

Olguların grup 1 ve 2'de çoğu (%85,71) ve grup 3'de tamamı evli idi, istatistiksel olarak medeni halleri açısından bir fark saptanmadı ($p=0,220$).

Emzirme süreleri karşılaştırıldığında 24 aydan uzun süre emzirme oranı grup 3'de en yüksek bulunmuş olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0,001$).

Her üç grupta da olguların çoğu (85,71) şehirde yaşıyordu bu açıdan da üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1,000$).

Grup 2'deki bir hasta dışında alkol kullanımı bildirilmemiş olup bu açıdan da istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır ($p=1,000$).

Ailede POF varlığı ve açısından gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p= 0,078$) (Tablo 1).

Gruplar arasında serum FSH, LH, E₂ ve prolaktin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken ($p<0.001$), T₃, T₄ ve TSH arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Serum kadmiyum düzeyleri beklenenin aksine grup 1'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde grup 2 ve 3'e göre azalmış bulunurken ($p<0,001$) grup 2 ve 3'ün arasında anlamlı bir fark yoktu (Tablo 2).

Tablo 2: POF tanısı alan ve kontrollerin karakteristik özellikleri

	Çalışma Grubu (Grup 1)	Kontrol Grubu 1 (Grup 2)	Kontrol Grubu 2 (Grup 3)	p değeri
Yaş (yıl)	31,7 ± 4,78	31,7 ± 4,91	54 ± 4,5	0,958
VKİ(kg/ m ²)	24,1 ± 4,07	25,3 ± 5,05	27,2 ± 4,31	0,434
Gravida	0,86 ± 1,38	1,81 ± 1,70	3,80 ± 2,15	0,000*
Parite	0,63 ± 1,24	1,49 ± 1,56	3,11 ± 1,69	0,000*
Yaşayan	0,66 ± 1,24	1,56 ± 1,54	3,11 ± 1,64	0,000*
Abortus	0,25 ± 0,74	0,23 ± 0,60	0,51 ± 1,17	0,430
Menarş yaşı	12,7 ± 1,5	12,9±1,3	12,9±1,8	0,745
Sigara (paket yıl)	11,2 ± 13,10	6,12 ± 4,99	10,0 ± 4,08	0,470

*p<0.05

Veriler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir.

Tablo 3: POF tanısı alan ve kontrollerin sosyoekonomik özellikleri

	Çalışma Grubu (Grup 1) n(%)	Kontrol Grubu 1 (Grup 2) n(%)	Kontrol Grubu 2 (Grup 3) n(%)	p değeri
Meslek				
Çalışan	2 (5,7)	10 (28,6)	4 (11,4)	0,095
Çalışmayan	33 (94,3)	25 (71,4)	31 (88,6)	0,095
Eğitim durumu				
Yok	6 (17,1)	1 (2,9)	9 (25,7)	0,066
İlköğretim	19 (54,3)	22 (62,9)	24 (68,6)	0,066
Lise	5 (14,3)	5 (14,3)	1 (2,9)	0,066
Üniversite	5 (14,3)	7 (20)	1 (2,9)	0,066
Aylık Geliri				
1273,50 TL Altı	27 (77,1)	23 (65,7)	22 (68,5)	0,214
1273,50 TL Üstü	8 (22,9)	12 (34,3)	13 (31,4)	0,214

Medeni Durum				
Evli	32 (91,4)	28 (80)	35 (100)	0,220
Bekar	3 (8,6)	7 (20)	0 (0)	0,220
Emzirme Süresi				
0-11 ay	25 (71,4)	16 (45,7)	2 (5,7)	0,000*
12-23 ay	3 (8,6)	2 (5,7)	4 (11,4)	0,000*
24 ay ve daha fazla	2 (5,7)	4 (11,4)	29 (82,9)	0,000*
Yerleşim Yeri				
Şehir	30 (85,7)	30 (85,7)	30 (85,7)	1,000
Kırsal	5 (14,3)	5 (14,3)	5 (14,3)	1,000
Alkol	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)	1,000
Aile Öyküsü	6 (17,1)	7 (20)	1 (2,9)	0,078
OKS kullanımı	3 (8,6)	4 (11,4)	0 (0)	0,137

*p<0.05

Veriler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4: POF tanısı alan ve kontrollerin hormon profili ve kan kadmiyum düzeyleri

	Çalışma Grubu (Grup 1)	Kontrol Grubu 1 (Grup 2)	Kontrol Grubu 2 (Grup 3)	p
FSH (mIU/mL)	93,15 ± 38,2	6,37±1,65	69,2±33,8	0,00*
LH (mIU/mL)	50,31±21,3	4,37±1,80	32,2±21,3	0,00*
Estradiol (pg/mL)	20,08±15,8	79,2±32,8	20,2±12,6	0,00*
TSH (uIU/mL)	2,21±1,44	1,92±0,93	2,10±2,04	0,690
Serbest T3 (pg/mL)	3,37±0,65	3,06±0,86	2,80±0,98	0,028
Serbest T4 (ng/dL)	1,04±0,37	1,12±0,67	1,14±0,65	0,579
Kadmiyum (mg/L)	0,45±2,44	0,51±0,42	0,78±2,02	0,00*

* p<0.05

Veriler Ortalama ± Standart Sapma olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Dünya nüfusunun hızla artmasına paralel olarak, artan enerji kullanımı, endüstrinin gelişimi ve şehirleşme ile açığa çıkan zararlı kimyasalların etkisi ile hava, su ve gıda maddeleri kirlenmektedir.

Eser elementler ve ağır metallerin insan sağlığı üzerine etkileri hakkında çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen fertilité üzerine olan etkileri tam olarak açıklanamamıştır. Elementlerin üreme fonksiyonlarına etkileri sonucu fertilité kapasitesini etkileyebileceği düşünüldüğü için bu konu hakkında yeni araştırmaların yapılması gerekmektedir. Aynı zamanda bir infertilité nedeni de olabilen POF'da da ağır metallerin rolü olabileceği öngörülmekle beraber, POF'un çoğu idiyopatik olup ağır metallerle ilgisine dair literatürde herhangi bir araştırılma ya da tez bulunmamaktadır. Bu çalışma bir ağır metal olan kadmiyumun POF olan hastaların etyopatogenezinde rolüne dair literatürdeki ilk çalışmadır.

Çalışmamızda POF olan grupta tam kan kadmiyum düzeyi 0.45 ± 2.44 µg/L, kontrol grubu 1 de ise 0.51 ± 0.42 µg/L, kontrol grubu 2 de 0.78 ± 2.02 olarak saptanmıştır ($p>0.05$) Kan kadmiyum değerleri her üç grup arasında karşılaştırıldığında öngörülenin aksine POF olan grupta kan kadmiyum düzeyi grup 2 ve 3'e göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Grup 2 ile 3 arasında ise kan kadmiyum düzeyi açısından istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

Kadmiyum gümüş beyazı renginde bir metaldir. Kadmiyum doğada çinko ile birlikte bulunur, fakat en yaygın kaynak sigara kullanımımızdır. Bir paket sigara ile 2-4 µg kadmiyumun solunum yolu ile alındığı; besinlerle, sigara, hava ile günde yaklaşık olarak 18-200 µg kadmiyum alındığı saptanmıştır (149). Metal sanayiinde çinkonun saflaştırılmasıyla çıkan baca dumanları da kaynak oluşturur.

Kadmiyumun metal ve tuzları (asetat, bromid, florid, iyodit, karbonat, klorür, oksit, salisilat, siyanit, tungstat) serbest ya da çinko, nikel, gümüş ve

kurşunla alaşım şeklinde endüstride gittikçe artan bir şekilde kullanılmaktadır. Kadmiyum birçok kaynaktan oluşan kirlilik nedeniyle çevreye yayılan bir ağır metaldir. Kadmiyum diğer ağır metaller içinde suda çözünme özelliği en yüksek olan elementtir. Metalin bilinen bir faydalı biyolojik işlevi yoktur, insan yaşamı için gerekli elementlerden biri değildir. Kadmiyum, çinko, bakır, demir ve kalsiyumun barsaktan emilme şekilleri benzerdir. Kadmiyum emilim aşamasında metalotiyonine olan ilgisi nedeniyle bu proteinin sentezlenmesini sağlayarak çinko emilimini bozar.

İnsan yaşamını etkileyen önemli kadmiyum kaynakları, elektrik endüstrisinde, su boruları, kömür yanması, seramik, lastik, cam, tekstil, deri sektöründe, kadmiyum içeren boyalar, plastikler, kadmiyumlu piller, rafine edilmiş yiyecek maddeleri, meyveler, kahve, çay, kabuklu deniz ürünleri, gibi ürünlerdir. Kadmiyumun 15-30 yıllık uzun bir biyolojik yarı ömrü vardır, temel olarak bedenden atılma oranı düşüktür ve kan, karaciğer, böbrek, plasenta, testis ve over gibi üreme organlarında uzun süre birikir. İnsanların kadmiyuma maruz kalması renal hastalık, hipertansiyon, osteoporoz, lösemi ve akciğer, karaciğer, mesane, pankreas, meme ve prostat kanseri insidansını artırır (150).

Uzun süre kadmiyuma maruz kalmanın hem insanlarda hem de hayvanlarda toksik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (151). Kadmiyum ve çinko yaşamsal önem taşıyan bir çok enzimatik reaksiyonda yer değiştirir. Kadmiyum önemli enzim ve organ fonksiyonlarında çinkonun yerini alabilmekte ve fonksiyonlarını engellemektedir (149).

Kadın üretkenliğinde fekundite ve fertilitiyi azaltan bozuklukların metal üretimi ve yakıt artıkları gibi endüstriyel süreçlerin ve çevresel toksinlerin artışı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (152-154). Bir kadmiyum kaynağı olan sigara dumanı kadmiyumun haricinde 3000'den fazla farklı kimyasal madde içermektedir ve neden olduğu sağlık sorunları içinde üreme fonksiyon bozukluğu da bulunmaktadır. Ancak fertil ve infertil olgular arasında sigara içimi arasında

çarpıcı düzeyde farklılıklar her zaman gösterilememiştir. Dolayısıyla hangisinin ne oranda olumsuz etkiye sahip olduğu, etkili olsa bile düzeyinin ne kadar olduğu, daha da önemlisi bu etkilerin klinik anlamının ne olduğu tam olarak aydınlatılabilmiş değildir (155).

İnsanlarda kadmiyumun fizyolojik konsantrasyonları, yaş ve sigara içimi ile artmakla birlikte, kanda 2.9 ± 2.5 µg/l, seminal plazmada 0.19 ± 0.2 µg/l ve foliküler sıvıda 6.73 ± 0.31 µg/l olarak tespit edilmiştir (156). Sigara içenlerde bu rakamlar iki katına çıkabilir (157). Bununla birlikte birçok çalışmada 10-30 µM konsantrasyonlardaki kadmiyumun hücre için toksik olabileceği, hatta hücre ölümüne yol açabileceği gösterilmiştir (158-160).

Bu çalışmada da hergruptaki sigara içen hastaların kan kadmiyum düzeyleri karşılaştırıldığında; grup 1 de ortalama $3,06\pm 6,39$, grup 2 de $0,94\pm 0,47$ ve grup 3 de $3,68\pm 5,7$ olarak bulunmuştur. Sigara içmeyenlerde ise grup 1 de ortalama $0,22\pm 0,28$, grup 2 de $0,49\pm 0,28$ ve grup 3 de $0,45\pm 0,49$ olarak saptanmıştır.

Kadmiyum bir metalloöstrojen olarak değerlendirilmektedir. Alfa ve beta östrojen reseptörlerine bağlanarak stimule ederken eş zamanlı olarak progesteron reseptörlerini up regüle eder. Bu nedenle meme kanseri, endometrium kanseri, endometriozis ve spontan abortlar gibi östrojen bağımlı hastalıkların nedeni olabilir (157,161,162).

Kadmiyumun embriyogenez, implantasyon ve plasentasyondan sorumlu endometrial hücrelerdeki anjiogenik süreci etkileyen vasküler endotelial büyüme faktörü A(VEGF-a) ve plasental büyüme faktörü (PIGF) ekspresyonunu etkileyerek endometrial disfonksiyon, implantasyon başarısızlıkları, prematür doğum, subfertilite, spontan abort ve preeklampsi ile ilişkisi gösterilmiştir (163).

Tayvan'da yapılan bir çalışmada servikal müküste kadmiyum düzeyi 29.72 ± 40.43 µg/L bulunmuştur. Yaşa göre kadmiyum düzeyinde bir değişim izlenmemiştir (164).

Kadmiyum maruziyeti üzerinde yapılan çalışmalara bakıldığında dişilerde gonadotropin salgılanmasını azalttığı, granüloza hücreleri üzerine toksik etkisi olduğu görülmektedir (165).

Kadmiyumun laboratuvar kemirgenlerinde hipotalamo-hipofizer-gonadal aks içinde farklı düzeyde işlev bozukluğu oluşturduğu bildirilmiştir. Kadmiyum uygulaması sonrasında hipofizde kadmiyum birikimi gösterilmiş ve hipofizer dokuda LH miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Günümüzde hiçbir farmakolojik ajanın kadmiyum intoksikasyonunun tedavisinde etkili olmadığı, ancak hayvan çalışmalarında kadmiyumun neden olduğu hepatotoksisite, kanser geliştirme potansiyeli, testiküler hasar ve over lezyonlarına karşı çinkonun koruyucu bir özelliği olduğu saptanmıştır (166). Hormon sekresyonunun düzenlenmesinde kalsiyum seviyesi önemlidir. Smith ve ark., kadmiyumun hücre içinde kalsiyumu serbest bıraktığını, çinkonun ise kadmiyum taşınması ve birikimi sürecini engellediğini saptamışlardır (167).

İn vitro kurşun veya kadmiyum maruziyetinin gonadotropinlerin bağlanmasını ve steroid üretimini azalttığı saptanmıştır (168). Nampoothini ve ark.'nın (169) yaptıkları çalışmada hem in vivo hem de in vitro kurşun, kadmiyum ve her ikisine maruz kalan dişi ratlarda gonadotropin bağlanmasının azaldığı; bu azalmanın membran yapısındaki değişime bağlı olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada kadmiyum verilen dişi ratların granüloza hücrelerinde serbest radikallerde artış, glutasyon seviyesinde düşüş olduğu ve membranların lipid peroksidasyonunda hafif yükselme olduğu ortaya koyulmuştur. Serbest radikallerde artış olmasıyla membran hasarı sonrası gonadotropin bağlanmasında azalma olduğu ve bunun üreme sistemindeki fonksiyon bozukluklarına neden olan majör mekanizma olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ayrıca kadmiyum ve kurşunun gonadotropinlerin bağlanmasını ve granüloza hücre steroidogenez enzim aktivitesini azaltarak ve hormon üretimini bozarak infertiliteye neden olduğunu saptamışlardır (169).

Paksy ve ark.'nın erişkin ratlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada 2.5, 5, 10 mg/kg düşük doz kadmiyum klorür uyguladıkları rat ve 5 ve 10 mg/kg gibi yüksek doz uygulanan ratlarda sırasıyla %40 ve %87 oranında infertilite görüldüğü bildirmişlerdir. Bunun nedenini geri dönüşümsüz hipofiz disfonksiyonu olarak ileri sürmüşlerdir (170).

Ancak Lei ve ark.'nın infertil ve gebe kadınlar arasında yaptıkları bir çalışmada da kurşun ve arsenik düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunurken kadmiyum ile bir ilişki saptanmamıştır (171).

Kurşun ve kadmiyumun granüloza hücrelerine LH ve FSH bağlanmasında azalmaya yol açarak steroid üretimini direkt olarak etkilediği gösterilmiştir. Granüloza hücre kültüründe yapılan bir çalışmada glutatyon koruyuculara veya çinkoya maruz kalan hücrelerde gonadotropin bağlanmasında artış olduğu tespit edilmiştir (168).

Belani ve ark.'nın 2014 yılında ratlarda yaptıkları bir çalışmada kadmiyumun granüloza hücrelerindeki insülin reseptörü üzerine etkisi araştırılmıştır. İnsülin reseptörlerinin down regülasyonu sonucunda insüline dirençli granüloza hücre sayısının arttığı ve buna bağlı olarak serum östradiol seviyesinin azaldığı ve anovulasyon üzerinden infertiliteye neden olduğu gösterilmiştir (172).

Başka bir çalışmada da kadmiyuma maruz bırakılan hayvanlarda ovaryan steroid düzeyinin azalması sonucunda folikül sayısı ve gelişmekte olan foliküllerdeki granüloza hücre popülasyonunun azaldığı gösterilmiştir (169).

Toksik elementlerin granuloza hücre hasarı ve infertiliteye neden olabileceği düşüncesiyle Drbohlav ve ark. tarafından infertil kadınlarda kan ve folliküler sıvı kadmiyum düzeyleri araştırılmıştır. IVF programına alınan infertil kadınlarda, gebelik oluşan ve oluşmayan olguların kan ve folliküler sıvı kadmiyum konsantrasyonu arasında fark saptanmamıştır (173).

Kurşun ve kadmiyum organizma içinde serbest radikaller oluşturarak oksidatif dengeyi bozarlar. Serbest radikalleri organizmadan temizleyen glutationun tükenmesi over fonksiyonunun azalması açısından önemlidir. Kurşun ve kadmiyum maruziyeti sonrasında östrojen üretiminin azaldığı, östrojenin süperoksit dismutazı düzenlediği bildirilmiştir (174). Varga ve ark. kadmiyum düzeyinin 30-65 yaş grubundaki kadınların overlerinde yükseldiğini ve ovulasyonu azalttığını saptamışlardır (175). Kadmiyumun subkütan enjeksiyonundan 2 gün sonra estrus fazındaki sıçanların over venöz kanlarında hCG'nin stimüle ettiği progesteron sekresyonunu azalması ile over fonksiyonunu direkt olarak etkilediğini ortaya koymuşlardır (176)

Kadmiyumun in-vitro olarak, oosit maturasyonu, canlı sperm ve fertilizasyon oranlarını azalttığı, hatta yüksek dozlarda (20 µM) oositler için öldürücü (dejenerasyon yaparak) etki gösterdiği ve sperm membran bütünlüğünü bozarak akrozom reaksiyonunu başlattığı gösterilmiştir (177).

Ooferektomize hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmada kadmiyumun uterus ve meme dokusunda ER^αleri üzerinden östrojenik etkilerinin olduğu ve uterus ağırlığında artışa neden oldukları rapor edilmiştir. Uterus ağırlığındaki bu artışın toksisiteye değil, kadmiyumun mitojenik etkisine bağlı olduğu öne sürülmüş ve kadmiyumun in-vivo olarak güçlü bir nonsteroidal östrojen olduğuna kanaat getirilmiştir (178)

Ooferektomize hayvan çalışmalarında kadmiyumun, muhtemelen inflamasyona yol açarak, östrojenden farklı bir mekanizmayla etki ettiği öne sürülmüştür. 17β-östradiol verilen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kadmiyumun doz bağımlı olarak (0.8 mg/kg/gün) östradiole benzer biçimde ancak daha az miktarda; uterus ağırlığında artış, epitelyum hücrelerinde nükleus/sitoplazma oranında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir (179,180). Ancak östrojenden farklı olarak kadmiyumun, luminal epitelyum hücrelerinin yüksekliklerinde ve endometriyal bezlerin sayısında bir artışa neden olmadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada her iki grupta da kontrol grubuna göre anlamlı

biçimde endometriyal kalınlıkta artış saptanmış olmakla birlikte, östradiol verilen grupta uterin kavite yüzeyinde çok sayıda epitel sütunlarının olduğu ve bu nedenle kavitenin inişli-çıkışlı bir görünümde olduğu gösterilmiştir. Ancak kadmiyum verilen grupta endometriyumda atrofik ve düz bir görünüm olduğu ve yüzeyin hiyalin hücrelerle döşenmiş olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte kadmiyum alan grupta endometriyal bezlerin sayısında anlamlı bir azalma olduğu da rapor edilmiştir (180).

Ne yazık ki toksik bileşenlerin etki mekanizması her zaman anlaşılabilir değildir, çünkü bir grup çevresel kirleticilerin üyelerinin etkileri bu kirleticilerin tek başlarına gösterdikleri etkiden farklı olabilmektedir. Birçok toksik kimyasal bileşenin kadın üreme sistemindeki biyolojik sensörü aril hidrokarbon reseptörüdür (AHR) (181). AHR tarafından regüle edilen genler sitokrom P4501A1 (CYP1A1) ve sitokrom P4501B1 (CYP1B1)'dir ve bunlar zararlı toksinlerin detoksifikasyonunda rol alır. AHR toksik kimyasallar ile aktive olur ve türe ve dokuya özgü etki gösterir (182). Dioksinler ve kurşun gibi ağır metaller AHR'ye bağlanarak farklı AHR ilişkili gen ekspresyonlarına sebep olabilir (183,184).

Yakın zamanda progesteron reseptör membran bileşeni 1 (PGRMC1)'in progesterona bağlanarak granüloza hücrelerinde apoptozisi düzenlediği gösterilmiştir (185). Cavallini ve ark.'nın endüstrileşmenin ve çevresel kirliliğin yüksek olduğu İtalya'nı Toronto şehrinde doğmuş ve büyümüş 30 kadın ve çevresel kirliliğin olmadığı başka coğrafik alandaki 30 kadından oluşan vaka-kontrol çalışmasında endüstriyel kimyasal kirleticilerin granüloza hücrelerindeki uzun dönemdeki etkileri değerlendirilmiştir. Her iki gruba da infertilite nedeni ile in vitro fertilizasyon (IVF) ve embriyo transferi yapılmıştır. Kontrollü ovaryan stimülasyon ve oosit pick up sonrasında granüloza hücrelerinde AHR, alfa-beta östrojen reseptörleri, progesteron reseptörü, androjen reseptör seviyesi ve östradiolün yapımı ve yıkımı ile ilişkili enzimlerin ekspresyonu analiz edilmiştir. Aynı örnekler kirleticilerin AHR bağımlı apoptozis üzerine olan etkilerini

değerlendirmek amacıyla da kullanılmıştır. Aynı çalışmada çevresel kirleticilerin uzun dönem maruziyetini göstermesi açısından foliküler sıvıdaki ağır metal düzeyleri analiz edilmiştir. Toronto grubunda PGRMC1 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (186). Düşük östrodiol üretimi ile ilişkili anti-apoptotik ve anti-mitotik süreç Toronto'daki kadınlardaki düşük matür oosit sayısını açıklamaktadır. Ancak bu çalışmada bakılan ağır metallerden Toronto'lu kadınlarda demir, çinko, krom ve kurşunun istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Kadmiyum ile böyle bir ilişki gösterilememiştir (186). PGRMC1 over hücrelerinin canlılığının devamında klinik açıdan önemli bir rol oynamaktadır. POF olan hastalarda PGRMC1 geninin promotor bölgesinde depresyon, metilasyon ve nokta mutasyonları bildirilmiştir (187).

6. SONUÇ

Bu çalışmada da tek bir ağır metal maruziyeti ele alınmış olup kadmiyumun POF ile ilişkisi gösterilememiştir

Üreme sistemi üzerine ağır metallerin etkisini araştıran çalışmalarda genellikle tek bir metal ele alınmıştır. Ancak insanların ağır metal maruziyeti genellikle birden fazla metali içermektedir. Metallerin birlikte olan etkileri birbirlerinin etkisini artırıcı, sinerjistik veya azaltıcı olmak üzere değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle de metallerin insan sağlığı üzerine etkilerini araştırmayı zorlaştırmaktadır.

Ancak bu ilişkinin daha geniş ve maruziyet açısından daha heterojen toplumlarda araştırılması gerekmektedir.

7. ÖZET

Amaç: Prematür ovaryan yetmezlik tanısı alan hastalarda serum kadmiyum düzeyi saptanarak prematür ovaryan yetmezlik etyopatogenezinde ağır metal maruziyetinin etkisinin olup olmadığının ortaya konulması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: 2014 ile 2015 yılları arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite Bilim Dalı polikliniklerine başvurmuş olan prematür ovaryan yetmezlik tanısı almış olan 35 hasta, 24-39 yaş arasında, düzenli adet gören 35 kontrol ve doğal menopoza girmiş olan 35 kontrol olmak üzere toplam 105 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların yaş, vücut kitle indeksi, hormon profilleri, sosyoekonomik durumları ve serum kadmiyum düzeyleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Olguların gravida, parite, yaşayan çocuk oranları, emzirme süreleri, serum FSH, LH ve E₂ düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken; yaş, abortus öyküsü, vücut kitle indeksi, medeni hali, menstrüasyon yaşı, öğrenim durumu, yerleşim yeri, sigara ve alkol kullanımı, gelir düzeyi, meslek, günlük sedanter geçirilen zaman ve fiziksel aktivite, oral kontraseptif kullanımı, kronik hastalık, cerrahi öyküsü, aile öyküsü ve kemoterapi/radyoterapi maruziyeti açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Kadmiyum düzeyleri prematür ovaryan yetmezliği olan grupta, kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptandı.

Sonuç: Yapılan birçok çalışmada ağır metal maruziyetinin üreme sağlığı üzerine olumsuz etkileri gösterilmiş olmasına rağmen prematür ovaryan yetmezlik ile ilişkisi bulunamamıştır.

8. SUMMARY

Objective: The aim of this study is to determine the affect of heavy metal exposure in the etiopathogenesis of premature ovarian failure.

Materials and method: Between the dates 2014 and 2015, 35 patients who were diagnosed with Premature ovarian failure in İnönü University Medicine Faculty outpatient Reproductive Endocrinology and Infertility clinic were included this study. 35 patients who were between 24-39 age-old, regularly menstruated and 35 patients who were naturally menopausal are also included the study. The patients' age, BMI, hormonal profiles, socio-economic status and serum cadmium levels were compared.

Results: The difference between the groups about the gravida, parity, live birth ratio, breastfeeding time, serum FSH, LH and estradiol levels were statistically significant. There were no difference between the groups about age, abortion, BMI, marital status, menarche age, education status, settlement, cigarette and alcohol use, income rate, job, daily sedantary time spent, physical activity, oral contraceptive use, chronic disease, operation history, family history and chemotherapy/radiotherapy history. Cadmium levels were statistically significantly lower in POF group than the control groups.

Conclusion: Although many studies have demonstrated negative effects of heavy metal exposure on the reproductive health, there is no evidence about the relationship between heavy metals exposure and premature ovarian failure.

9. KAYNAKLAR

1. Coulam CB. Premature gonadal failure. *Fertil Steril* 1982; 38(6): 645-55.
2. Coulam C, Adamson S, Annegers J. Incidence of premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1986; 67(4): 604-6.
3. Nelson LM, Anasti JN, Kimzey LM, et al. Development of luteinized Graafian follicles in patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79(5):1470-5.
4. van Kasteren YM, Schoemaker J. Premature ovarian failure: a systematic review on therapeutic interventions to restore ovarian function and achieve pregnancy. *Hum Reprod Update* 1999; 5(5):483-92.
5. Bakalov VK, Anasti JN, Calis KA, et al. Autoimmune oophoritis as a mechanism of follicular dysfunction in women with 46,XX spontaneous premature ovarian failure. *Fertil Steril* 2005; 84(4): 958-65.
6. Rebar RW, Connolly HV. Clinical features of young women with hypergonadotropic amenorrhea. *Fertil Steril* 1990; 53(5):804-10.
7. Tarin JJ. Aetiology of age-associated aneuploidy: a mechanism based on the 'free radical theory of ageing'. *Hum Reprod* 1995; 10(6): 1563-5.
8. Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod* 1997; 12(5): 1047-55.
9. Rebar RW, Erickson GF, Yen SSC. Idiopathic premature ovarian failure: clinical and endocrine characteristics. *Fertil Steril* 1982; 37(1): 35-41.

10. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98(13): 890-6
11. Panay N & Fenton A. Premature ovarian failure: a growing concern. *Climacteric* 2008; 11(1): 1-3.
12. Luborsky JL, Meyer P, Sowers MF, Gold EB and Santoro N. Prematuremenopause in a multi-ethnic population study of the menopause transition. *Hum.Reprod.* 2003; 18(1): 199-206
13. Wu X, Cai H, Kallianpur A, Li H, Yang G, Gao J, Xiang YB, Ji BT, Yu T, Zheng W, Shu XO. Impact of Premature Ovarian Failure on Mortality and Morbidity among Chinese Women. *PLoS One* 2014; 9(3): e89597.
14. Panay N, Kalu E. Management of premature ovarian failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2009 Feb; 23(1):129-40.
15. Groff AA, Covington SN, Halverson LR et al. Assessing the emotional needs of women with spontaneous premature ovarian failure. *Fertil Steril* 2005; 83(6): 1734-41.
16. De Vos M, Devroey P, Fauser BC. Primary ovarian insufficiency. *Lancet.* 2010 Sep 11; 376(9744): 911-21.
17. Anasti JN: Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril* 1998; 70(1): 1-15.
18. Nelson L. Clinical practice. Primary ovarian insufficiency. *N Engl J Med* 2009; 360(6): 606-14.
19. Nippita TA and Baber RJ. Premature ovarian failure: a review. *Climacteric.* 2007 Feb; 10(1): 11-22

20. Wittenberger MD, Hagerman RJ, Sherman SL, et al. The FMR1 premutation and reproduction. *Fertil Steril* 2007; 87(3): 456-65.
21. Nelson LM, Covington SN, Rebar RW. An update: spontaneous premature ovarian failure is not an early menopause. *Fertil Steril* 2005; 83(5): 1327-32.
22. Kokcu A. Premature ovarian failure from current perspective. *Gynecol Endocrinol* 2010; 26(8): 555-562.
23. Vujovic S. Aetiology of premature ovarian failure. *Menopause Int* 2009; 15(2):72-75.
24. La Marca A, Brozzetti A, Sighinolfi G, Marzotti S, Volpe A, Falorni A. Primary ovarian insufficiency: autoimmune causes. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2010; 22(4): 277-282
25. Jiao X, Qin C, Li J, Qin Y, Gao X, Zhang B, Zhen X, Feng Y, Simpson JL, Chen ZJ. Cytogenetic analysis of 531 Chinese women with premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2012; 27(7): 2201-7.
26. Kalantari H, Madani T, Zari Moradi S, Mansouri Z, Almadani N, Gourabi H, Mohseni Meybodi A. Cytogenetic analysis of 179 Iranian women with premature ovarian failure. *Gynecol Endocrinol* 2013; 29(6): 588-91.
27. Michala L, Goswami D, Creighton SM, Conway GS. Swyer syndrome: presentation and outcomes. *BJOG* 2008; 115(6): 737-41
28. Cramer DW, Xu H and Harlow BL. 1995a. Does "incessant" ovulation increase risk for early menopause? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 172(2): 568-73.
29. Davis CJ, Davison RM, Payne NN, Rodeck CH, Conway GS. Female sex preponderance for idiopathic familial premature ovarian failure suggests an X chromosome defect: Opinion. *Hum. Reprod.* 2000; 15(11): 2418-22.

30. He C, Kraft P, Chen C, Buring JE, Pare' G, Hankinson SE, Chanock SJ, Ridker PM, Hunter DJ & Chasman DI. Genome-wide association studies identify loci associated with age at menarche and age at natural menopause. *Nature Genetics* 2009; 41(6): 724-8.
31. Perry JR, Stolk L, Franceschini N, Lunetta KL, Zhai G, McArdle PF, Smith AV, Aspelund T, Bandinelli S, Boerwinkle E et al. 2009 Meta-analysis of genome-wide association data identifies two loci influencing age at menarche. *Nature Genetics* 41(6): 648-50.
32. Cramer DW, Xu H and Harlow BL. Family history as a predictor of early menopause. *Fertil Steril.* 1995 Oct; 64(4): 740-5.
33. Fitch, N.; De Saint Victor, J.; Richer, C.L.; Pinski, L.; Sitahal, S. Premature menopause due to a small deletion in the long arm of the X chromosome: a report of three cases and a review. *Am. J. Obstet.Gynecol.*, 1982; 142(8), 968-72
34. Marozzi, A.; Manfredini, E.; Grazia Tibiletti, M.; Furlan, D.; Villa, N.; Vegetti, W.; Crosignani, P.G.; Ginelli, E.; Meneveri, R.; Dalprà. Molecular definition of Xq common-deleted region in patients affected by premature ovarian failure. *L. Hum. Genet.* 2000; 107(4): 304-11.
35. Fassnacht W, Mempel A, Strowitzki T, Vogt PH. Premature ovarian failure (POF) syndrome: towards the molecular clinical analysis of its genetic complexity. *Curr Med Chem.* 2006; 13(12): 1397-410.
36. Stratakis CA, Rennert OM. Turner syndrome: molecular and cytogenetics, dysmorphology, endocrine, and other clinical manifestations and their management. *Endocrinologist.* 1994; 4: 442-53
37. Jacobs P, Dalton P, James R, Mosse K, Power M, Robinson D, Skuse D. Turner syndrome: a cytogenetic and molecular study. *Ann Hum Genet* 1997; 61(Pt 6): 471-83.

38. Modi, D.N.; Sane, S.; Bhartiya D. Accelerated germ cell apoptosis in sex chromosome aneuploid fetal human gonads. *Mol Hum Reprod.* 2003 Apr; 9(4): 219-25.
39. Marozzi A, Porta C, Vegetti W, Crosignani PG, Tibiletti MG, Dalprà L, Ginelli E. Mutation analysis of the inhibin alpha gene in a cohort of Italian women affected by ovarian failure. *Hum Reprod.* 2002 Jul; 17(7): 1741-5
40. Sato, K.; Uehara, S.; Hashiyada, M.; Nabeshima, H.; Sugawara, J.; Terada, Y.; Yaegashi, N.; Okamura, K. *Am. J. Med. Genet.* , 2004; 130A (3), 240-4.
41. Ogata T, Matsuo N. Turner syndrome and female sex chromosome aberrations: deduction of the principal factors involved in the development of clinical features. *Hum Genet.* 1995 Jun; 95(6): 607-29.
42. Sybert, V.P.; McCauley, E. N. *Engl. J. Med.*, 2004; 351(12): 1227-38
43. Jacobs P, Baikie A, Brown W, Macgregor T, Maclean N, Harnden D: Evidence for the existence of the human "superfemale". *Lancet* 1959; 2(7100): 423-5.
44. Nielsen J: Sex Chromosome Abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1990; 26(4): 209-23.
45. Linden MG, Bender BG, Harmon RJ, Mrazek DA, Robinson A. 47, XXX: what is the prognosis? *Pediatrics*, 1988; 82(4): 619-30
46. Tartaglia NR, Howell S, Sutherland A, Wilson R, Wilson L. A review of trisomy X (47,XXX). *Orphanet J Rare Dis.* 2010 May 11; 5: 8.
47. Goswami R, Goswami D, Kabra M, Gupta N, Dubey S, Dadhwal V: Prevalence of the triple X syndrome in phenotypically normal women with premature ovarian failure and its association with autoimmune thyroid disorders. *Fertil Steril* 2003; 80(4): 1052-4.

48. Amiri K, Hagerman RJ, Hagerman PJ (2008) Fragile X-associated tremor/ataxia syndrome: an aging face of the fragile X gene. *Arch Neurol.* 2008; 65(1): 19-25
49. Cordts EB, Christofolini DM, Dos Santos AA, Bianco B, Barbosa CP. Genetic aspects of premature ovarian failure: a literature review. *Arch Gynecol Obstet.* 2011 Mar; 283(3):635-43.
50. Bennett CE, Conway GS, Macpherson JN, Jacobs PA, Murray A. Intermediate sized CGG repeats are not a common cause of idiopathic premature ovarian failure. *Hum Reprod* 2010; 25(5): 1335-8.
51. Qin Y, Vujovic S, Li G, Li J, Dalglish R, Simpson JL, Ivanisevic M, Ivovic M, Tancic M, Al-Azzawi F, Chen ZJ. Ethnic specificity of variants of the ESR1, HK3, BRSK1 genes and the 8q22.3 locus: No association with premature ovarian failure (POY) in Serbian women. *Maturitas* 2014; 77(1): 64-7.
52. Chapman C, Cree L, Shelling AN. The genetics of premature ovarian failure: current perspectives. *Int J Womens Health* 2015; 7: 799-810.52
53. 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; 91(5): 1723-8
54. Mark-Kappeler CJ, Hoyer PB, Devine PJ. Xenobiotic effects on ovarian preantral follicles. *Biol Reprod.* 2011 Nov; 85(5): 871-83.
55. Chapman R. Effect of cytotoxic therapy on sexuality and gonadal function. *Semin Oncol* 1982; 9(1): 84-94
56. Blumenfeld Z. Preservation of fertility and ovarian function and minimalization of chemotherapy associated gonadotoxicity and premature ovarian failure: the role of inhibin-A and -B as markers. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 187(1-2): 93-105.
57. Byrne J. Long-term genetic and reproductive effects of ionizing radiation and chemotherapeutic agents on cancer patients and their offspring. *Teratology* 1999; 59(4): 210-5.

58. Harel S, Fermé C, Poirot C. Management of fertility in patients treated for Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2011 Nov; 96(11): 1692-9.
59. Bines J, Oleske D, Cobleigh M. Ovarian function in premenopausal women treated with adjuvant chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 1996; 14(5): 1718-2
60. Shamberger R, Rosenberg S, Seipp C, Sherins R. Effects of highdose methotrexate and vincristine on ovarian and testicular functions in patients undergoing postoperative adjuvant treatment of osteosarcoma. *Cancer Treat Rep* 1981; 65(9-10): 739-46.
61. Sonmezer M, Oktay K. Fertility preservation in female patients. *Hum Reprod Update* 2004; 10(3): 251-66
62. Wallace WH, Anderson RA, Irvine DS. Fertility preservation for young patients with cancer: who is at risk and what can be offered? *Lancet Oncol* 2005; 6(4):209-18.
63. Thibaud E, Rodriguez-Macias K, Trivia C, Esperou H, Michon J, Brauner R. Ovarian function after bone marrow transplantation during childhood. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21(3): 287-90.
64. Wallace WH, Thomson AB, Kelsey TW. The radiosensitivity of the human oocyte. *Hum Reprod* 2003; 18(1):117-21.
65. Davis VJ. Female gamete preservation. *Cancer* 2006; 107: 1690-4.
66. Stroud JS, Mutch D, Rader J, Powell M, Thaker PH, Grigsby PW. Effects of cancer treatment on ovarian function. *Fertil Steril* 2009; 92(2): 417-27.
67. Morice P, Juncker L, Rey A, El-Hassan J, Haie-Meder C, Castaigne D: Ovarian transposition for patients with cervical carcinoma treated by radiosurgical combination. *Fertil Steril* 2000; 74(4): 743-8.
68. Cramer DW, Xu H and Harlow BL. Does "incessant" ovulation increase risk for early menopause? *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1995;172(2): 568-73.
69. Hascalik S, Celik O, Sarac K, Hascalik M: Transient ovarian failure: a rare complication of uterine fibroid embolization. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83(7): 682-5.

70. Siddle N, Sarrel P, Whitehead M. The effect of hysterectomy on the age at ovarian failure: identification of a subgroup of women with premature loss of ovarian function and literature review. *Fertil Sterile*. 1987 Jan; 47(1): 94-100.
71. Coccia ME, Rizzello F, Mariani G, Bulletti C, Palagiano A, Scarselli G. Ovarian surgery for bilateral endometriomas influences age at menopause. *Hum Reprod* 2011; 26(11): 3000-7.
72. Raffi F, Metwally M, Amer S. The impact of excision of ovarian endometrioma on ovarian reserve: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97(9): 3146-54
73. Somigliana E, Berlanda N, Benaglia L, Vigano P, Vercellini P, Fedele L. Surgical excision of endometriomas and ovarian reserve: a systematic review on serum antimullerian hormone level modifications. *Fertil Steril* 2012; 98(6): 1531-8.
74. 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.
75. Tuttle AM, Stampfli M, Foster WG. Cigarette smoke causes follicle loss in mice ovaries at concentrations representative of human exposure. *Hum Reprod* 2009; 24(6):1452-9.
76. Vahakangas K, Rajaniemi H, Pelkonen O. Ovarian toxicity of cigarette smoke exposure during pregnancy in mice. *Toxicol Lett* 1985; 25(1):75-80.
77. Pokoradi AJ, Iversen L, Hannaford PC. Factors associated with age of onset and type of menopause in a cohort of UK women. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 205(1): 34 e31-13.
78. Sharara FI, Seifer DB and Flaws JA. Environmental toxicants and female reproduction. *Fertil. Steril*. 1998; 70(4): 613-22.
79. Hoyer PB, Sipes IG. Development of an animal model for ovotoxicity using 4- vinylcyclohexene: a case study. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 2007; 80(2):113-25.

80. Mayer LP, Pearsall NA, Christian PJ, Devine PJ, Payne CM, McCuskey MK, Marion SL, Sipes IG, Hoyer PB. Long-term effects of ovarian follicular depletion in rats by 4- vinylcyclohexene diepoxide. *Reprod Toxicol* 2002; 16(6): 775-81.
81. Kim Y, Park J, Moon Y. Hematopoietic and reproductive toxicity of 2-bromopropane, a recently introduced substitute for chlorofluorocarbons. *Toxicol Lett* 1999; 108(2-3): 309-13.
82. Morrison JC, Givens JR, Wiser WL, et al. Mumps oophoritis: A cause of premature menopause. *Fertil Steril* 1975; 26(7): 655-9.
83. Jequier AM, Davis SR. The premature menopause: An example of a difficult diagnostic problem. In *Programs and Abstracts of the 1st Australasian Menopause Society Congress, Perth, Australia, 1997*.
84. Balen A. *Reproductive Endocrinology for the MRCOG and beyond*. 1st ed. London: RCOG Press; 2003.
85. Shelling AN. Premature ovarian failure. *Reproduction*. 2010 Nov; 140(5): 633-41.
86. Hoek A, Schoemaker J, Drexhage HA: Premature ovarian failure and ovarian autoimmunity. *Endocr Rev* 1997; 18(1): 107-34.
87. Doldi N, Belvisi L, Bassan M, Fusi FM, Ferrari A: Premature ovarian failure: steroid synthesis and autoimmunity. *Gynecol Endocrinol* 1998; 12(1): 23-8.
88. Silva CA, Yamakami LY, Aikawa NE, Araujo DB, Carvalho JF, Bonfa E. Autoimmune primary ovarian insufficiency. *Autoimmun Rev* 2014; 13(4-5): 427-30.
89. Khole V. Does ovarian autoimmunity play a role in the pathophysiology of premature ovarian insufficiency? *J Midlife Health*. 2010 Jan; 1(1): 9-13.
90. Novosad JA, Kalantaridou SN, Tong ZB, Nelson LM. Ovarian antibodies as detected by indirect immunofluorescence are unreliable in the diagnosis of autoimmune premature ovarian failure: A controlled evaluation. *BMC Womens Health*. 2003; 3(1): 2

91. Avrameas S. Natural antibodies: From 'horror autotoxicus' to 'gnostic seauton' *Immunol Today*. 1991; 12(5): 154-9.
92. Welt CK. Autoimmune oophoritis in the adolescent. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1135: 118-22.
93. Goswami D, Conway GS. Premature ovarian failure. *Horm Res*. 2007; 68(4): 196-202.
94. Kim TJ, Anasti JN, Flack MR, Kimzey LM, Defensor RA, Nelson LM. Routine endocrine screening for patients with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1997; 89(5 Pt 1): 777-9.
95. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(2): 489-99
96. Smith JA, Vitale S, Reed GF, Grieshaber SA, Goodman LA, Vanderhoof VH, et al. Dry eye signs and symptoms in women with premature ovarian failure. *Arch Ophthalmol* 2004; 122(2): 151-6.
97. Welt C. Primary ovarian insufficiency: a more accurate term for premature ovarian failure. *Clin Endocrinol*. 2008; 68: 499-509.
98. Santoro N: Mechanisms of premature ovarian failure. *Ann Endocrinol* 2003; 64(2): 87-92.
99. van Kasteren YM, Hundscheid RD, Smits AP, Cremers FP, van Zonneveld P, Braat DD. Familial idiopathic premature ovarian failure: an overrated and underestimated genetic disease? *Hum Reprod* 1999; 14(10): 2455-9.
100. Fogle RH, Stanczyk FZ, Zhang X, Paulson RJ. Ovarian androgen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(8): 3040-3.

101. Ossewaarde ME, Bots ML, Verbeek AL, Peeters PH, van der Graaf Y. Age at menopause, cause-specific mortality and total life expectancy. *Epidemiology* 2005; 16(4): 556-62
102. Rocca WA, Grossardt BR, de Andrade M, Malkasian GD, Melton LJ III. Survival patterns after oophorectomy in premenopausal women: a population-based cohort study. *Lancet Oncol* 2006; 7(10): 821-8
103. Jacobsen BK, Knutsen SF, Fraser GE. Age at natural menopause and total mortality and mortality from ischemic heart disease: the Adventist Health Study. *J Clin Epidemiol* 1999; 52: 303-7.
104. Kalantaridou SN, Naka KK, Papanikolaou E, et al. Impaired endothelial function in young women with premature ovarian failure: normalization with hormone therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(8): 3907-13.
105. van der Schouw Y, van der Graaf Y, Steyerberg E, Eijkemans J, Banga J. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet* 1996; 347(9003): 714-8.
106. Stampfer MJ, Colditz GA. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med* 1991; 20: 47-63.
107. Grodstein F, Manson JE, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Stampfer MJ. A prospective, observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Ann Intern Med* 2000; 133(12): 933-41.
108. Bairey Merz CN, Johnson BD, Sharaf BL, Bittner V, Berga SL, Braunstein GD, Hodgson TK, Matthews KA, Pepine CJ, Reis SE, Reichek N, Rogers WJ, Pohost GM, Kelsey SF, Sopko G. Hypoestrogenemia of hypothalamic origin and coronary artery disease in premenopausal women: a report from the NHLBI - sponsored WISE study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41(3): 413-9.

109. Tolar J, Teitelbaum S, Orchard P. Osteopetrosis. *N Engl J Med* 2004;351: 2839–49. 168. Rosen C. Clinical practice. Postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 595-603
110. van Der Voort DJ, van Der Weijer PH, Barentsen R. Early menopause: increased fracture risk at older age. *Osteoporos Int* 2003; 14(6): 525-30
111. Amarante F, Vilodre LC, Maturana MA, Spritzer PM. Women with primary ovarian insufficiency have lower bone mineral density. *Braz J Med Biol Res.* 2011 Jan; 44(1): 78-83.
112. Maclaran K, Horner E, Panay N. Premature ovarian failure: long term sequelae. *Menopause Int.* 2010 Mar; 16(1): 38-41.
113. Woolley CS, Weiland NG, McEwen BS, Schwartzkroin PA. Estradiol increases the sensitivity of hippocampal CA1 pyramidal cells to NMDA receptor mediated synaptic input: correlation with dendritic spine density. *J Neurosci* 1997;17(5): 1848-59.
114. Hojo Y, Murakami G, Mukai H, Higo S, Hatanaka Y, Ogiue-Ikeda M, Ishii H, Kimoto T, Kawato S. Estrogen synthesis in the brain—role in synaptic plasticity and memory. *Mol Cell Endocrinol.*2008; 290(1–2): 31-43.
115. Maki PM, Zonderman AB, Resnick SM. Enhanced verbal memory in nondemented elderly women receiving hormonereplacement therapy. *Am J Psychiatry.* 2001; 158(2): 227-233.
116. Rocca WA, Bower JH, Maraganore DM, et al. Increased risk of cognitive impairment or dementia in women who underwent oophorectomy before menopause. *Neurology* 2007; 69(11): 1074-83
117. Wright, J., Bissonnette, F., Duchesne, C., Benoit, J., Sabourin, S., & Girard, Y. Psychosocial distress and infertility: Men and women respond differently. *Fertility and Sterility*, 1991; 55(1), 100-7.
118. Harlow, B. L., Cramer, D. W., & Annis, K. M. Association of medically treated depression and age at natural menopause. *American Journal of Epidemiology.* 1995; 141(12), 1170-6.

119. van der Stege JG, Groen H, van Zadelhoff SJ, et al. Decreased androgen concentrations and diminishes general and sexual well-being in women with premature ovarian failure. *Menopause* 2008; 15(1): 23-31.
120. Abdo CHN, Fleury HJ. Diagnostic and therapeutic aspects of female sexual dysfunctions. *Rev Psiquiatr Clin* 2006; 33(3): 162-7.
121. Graziottin A, Basson R. Sexual dysfunction in women with premature menopause. *Menopause* 2004; 11(6 Pt): 766-77
122. Elias AN, Pandian MR, Rojas FJ. Serum levels of androstenedione, testosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in patients with premature ovarian failure to age-matched menstruating controls. *Gynecol Obstet Invest* 1997; 43(1): 47-8.
123. Hartmann BW, Kirchengast S, Albrecht A, Laml T, Soregi G, Huber JO. Androgen serum levels in women with premature ovarian failure compared to fertile and menopausal controls. *Gynecol Obstet Invest* 1997; 44(2): 127-31.
124. Falsetti L, Scalchi S, Villani MT, Bugari G. Premature ovarian failure. *Gynecol Endocrinol* 1999; 13(3): 189-95.
125. Meskhi A, Seif MW. Premature ovarian failure. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006 Aug; 18(4): 418-26.
126. Kalantaridou SN, Davies SR, Nelson LM. Premature ovarian failure. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998; 27(4): 989-1006.
127. Rebar RW. Premature ovarian "failure" in the adolescent. *Ann N Y Acad Sci.*2008; 1135: 138-45.
128. Anasti JN, Kalantaridou SN, Kimzey LM, et al. Bone loss in young women with karyotypically normal spontaneous premature ovarian failure. *Obstet Gynecol* 1998; 91(1): 12-5.
129. Papalia MA, Davis SR. What is the rationale for androgen therapy for women? *Treat Endocrinol* 2003; 2(2): 77-84.
130. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH. Defining ovarian reserve to better understand ovarian aging. *Reprod Biol Endocrinol.* 2011; 7; 9:23.

131. Yan Z, Lee GY, Anderson E. Influence of dehydroepiandrosterone on the expression of insulin-like growth factor-1 during cystogenesis in polycystic rat ovaries and in cultured rat granulosa cells. *Biol Reprod* 1997; 57(6): 1509-16.
132. Casson PR, Santoro N, Elkind-Hirsch K, et al. Postmenopausal dehydroepiandrosterone administration increases free insulin-like growth factor-I and decreases high-density lipoprotein: a sixmonth trial. *Fertil Steril* 1998; 70(1): 107-10.
133. Barad D, Brill H, Gleicher N: Update on the use of dehydroepiandrosterone supplementation among women with diminished ovarian function. *J Assist Reprod Genet* 2007, 24(12): 629-34.
134. Gleicher N, Weghofer A, Barad D: Increased euploid embryos after supplementation with dehydroepiandrosterone (DHEA) in women with premature ovarian aging. *Fertil Steril* 2007, 88: S232.
135. Gleicher N, Weghofer A, Barad DH: Anti-Mullerian hormone (AMH) defines, independent of age, low versus good live-birth chances in women with severely diminished ovarian reserve. *Fertil Steril* 2010; 94(7): 2824-7.
136. Barad D, Gleicher N. Effect of dehydroepiandrosterone on oocyte and embryo yields, embryo grade and cell number in IVF. *Hum Reprod* 2006; 21(11): 2845-9.
137. Mamas L, Mamas E. Premature ovarian failure and dehydroepiandrosterone. *Fertil Steril* 2009; 91(2): 644-6.
138. Feigenberg T, Simon A, Ben-Meir A, Gielchinsky Y, Laufer N: Role of androgens in the treatment of patients with low ovarian response. *Reprod Biomed Online* 2009; 19(6): 888-98.
139. Check JH. Mild ovarian stimulation. *J Assist Reprod Genet* 2007; 24(12): 621-7.
140. Guttmann H, Weiner Z, Nikolski E et al. Choosing an oestrogen replacement therapy in young adult women with Turner syndrome. *Clin Endocrinol* 2001; 54(2): 159-64.

141. John H. Duffus "Heavy metals" a meaningless term? (IUPAC Technical Report)" Pure and Applied Chemistry 2002; 74: 793-807.
142. Kahvecioglu Ö, Kartal G, Güven A, Timur S. Metallerin Çevresel Etkileri-I. Metalurji Dergisi 2004; 136: 47-53.
143. Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK, Sutton DJ. Heavy Metals Toxicity and the Environment. EXS. Author manuscript; available in PMC 2014 Aug 26. Published in final edited form as:EXS. 2012; 101: 133-64.
144. Satarug S, Moore MR. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. Environ. Health 2004; 112(10): 1099-1103.
145. Bernard A. Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. BioMetals 2004; 17(5): 519-23.
146. Koizumi T, Waalkes MP. Effects of zinc on the distribution and Toxicity of Cadmium in isolated interstitial cells of the rat testis. Toxicology 1989; 56(2): 137-46.
147. Benoff S, Hauser R, Marmar JL, Hurley IR, Napolitano B, Centola GM. Cadmium concentrations in blood and seminal plasma: correlations with sperm number and motility in three male populations (infertility patients, artificial insemination donors, and unselected volunteers). Mol Med. 2009; 15(7-8): 248-62.
148. Nampoothini LP, Gupta S. Simultaneous effect of lead and cadmium on granulosa cells: a cellular model for ovarian toxicity. Reprod Toxicol 2006; 21(2): 179-85.
149. Berber A, Demir TA. Eskişehir’de yaşayan sigara içen gebelerin kanlarında ve doğum sonrası kord kanlarında kadmiyum, çinko düzeylerinin incelenmesi. Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı (Doktora Tezi) Eskişehir 2003

150. Henson CM, Chedrese PJ. Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction- Minireview. *Exp Biol Med.* 2004; 229: (5)383-92
151. Zadorozhnaja TD, Little RE, Miller RK. et al. Concentrations of arsenic, cadmium, copper, lead, mercury, and zinc in human placentas from two cities in Ukraine. *J Toxicol Environ Health.* 2000; 61(4): 255-63.
152. Younglai EV, Holloway AC, Foster WG. Environmental and occupational factors affecting fertility and IVF success. *Hum Reprod Update.* 2005; 11 (1): 43–57. PMID: 15601728
153. Younglai EV, Foster WG, Hughes EG, Trim K, Jarrell JF. Levels of environmental contaminants in human follicular fluid, serum, and seminal plasma of couples undergoing in Vitro Fertilization. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2002, 43:121–126. PMID: 12045882
154. Hombach-Klonisch S, Pocar P, Kietz S, Klonisch T. Molecular actions of polyhalogenated aryl hydrocarbons (PAHs) in female reproduction. *Curr Med Chem.* 2005; 12: (5)599-616. PMID: 15777215
155. Zenzes MT, Bielecki R, Reed TE. Detection of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in sperm of men exposed to cigarette smoke. *Fertil Steril.* 1999; 72(2): 330-5.
156. Leoni G, Bogliolo L, Deiana G, Berlinguer F, Rosati I, Pintus PP, Ledda S, Naitana S. Influence of cadmium exposure on in vitro ovine gamete dysfunction. *Reprod Toxicol.* 2002; 16: 371-7.
157. Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, Clarke R, Sholler PF, Lirio AA, Foss C, Reiter R, Trock B, Paik S, Martin MB. Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat Med.* 2003; 9: 1081-4.
158. Beyersmann D, Hechtenberg S. Cadmium, gene regulation, and signalling in mammalian cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 144: 246-7.

159. Hamada T, Tanimoto A, Sasaguri Y. Apoptosis induced by cadmium. *Apoptosis* 1997; 2: 359-67.
160. Foote RH. Fertility of rabbit sperm exposed in vitro to cadmium. *Reprod Toxicol* 1999; 13: 443-9.
161. Rzymiski P, Rzymiski P, Tomczyk K, Niedzielski P, Jakubowski K, Poniedziałek B, Opala T. Metal status in human endometrium: Relation to cigarette smoking and histological lesions. *Environmental Research* 2014; 132: 328-33.
162. Borja-Aburto V, Hertz-Picciotto I, Rojas Lopez M, Farias P, Camilo Rios, Blanco J. Blood lead levels measured prospectively and risk of spontaneous abortion. *Am J Epidemiol.* 1999; 150(6): 590-7.
163. Helmestam M, Stavreus-Evers A, Olovsson M. Cadmium chloride alters mRNA levels of angiogenesis related genes in primary human endometrial endothelial cells grown in vitro. *Reproductive Toxicology* 2010; 30: 370-6.
164. Chuang IC, Lee PN, Lin TH, et al. Determination of some elements in the cervical mucus of healthy Taiwanese women, by GF-AAS. *Biol Trace Elem Res.* 2002; 86(2): 137-43.
165. Zenzes MT. Smoking and reproduction: gene damage to human gametes and embryos. *Hum Reprod.* 2000; 6(2): 122-31
166. Paksy K, Varga B, Lazar P. Zinc protection against cadmium-induced infertility in female rats. Effect of zinc and cadmium on the progesterone production of cultured granulosa cells. *Bio Metals.* 1997; 10(1): 27-36
167. Smith JB, Dwyer SD, Smith L. Cadmium evokes inositol polyphosphate formation and calcium mobilization. *J Biol Chem.* 1989; 264: (15) 7115-8.

168. Priya PN, Pillai A, Gupta S. Effect of simultaneous exposure to lead and cadmium on gonadotropin binding and steroidogenesis on granulosa cells: an in vitro study. *Indian J Exp Biol.* 2004; 42: (2)143-8.
169. Nampoothini LP, Gupta S. Simultaneous effect of lead and cadmium on granulosa cells: a cellular model for ovarian toxicity. *Reprod Toxicol* 2006; 21(2): 179-85.
170. Paksy K, Varga B, Lazar P. Effect of cadmium on female fertility, pregnancy and postnatal development in the rat. *Acta Physiol Hung.* 1996; 84(2): 119-30.
171. Lei HL, Wei HJ, Ho HY, Liao KW, Chien LC. Relationship between risk factors for infertility in women and lead, cadmium, and arsenic blood levels: a cross-sectional study from Taiwan. *BMC Public Health.* 2015 Dec 9; 15: 1220.
172. Belani M, Purohit N, Pillai P, Gupta S, Gupta S. Modulation of steroidogenic pathway in rat granulosa cells with subclinical Cd exposure and insulin resistance: an impact on female fertility. *Biomed Res Int.* 2014;2014:460251.
173. Drbohlav P, Bencko V, Masata J et al. Detection of cadmium and zinc in the blood and follicular fluid in women in the IVF and ET program. *Ceska Gynekol.* 1998; 63(4): 292-300
174. Strehlow K, Rotter S, Wassmann S. et al. Modulation of antioxidant enzyme expression and function by estrogen. *Circ Res* 2003; 93(2): 170-7.
175. Varga B, Zsolnay B, Paksy K, et al. Age dependent accumulation of cadmium in the human ovary. *Reprod Toxicol.* 1993; 7(3): 225-8.
176. Piasek M, Laskey JW. Acute cadmium exposure and ovarian steroidogenesis in cycling and pregnant rats. *Reprod Toxicol.* 1994; 8(6): 495-507

177. Zenzes MT, Krishnan S, Krishnan B. et al. Cadmium accumulation in follicular fluid of women in in vitro fertilization-embryo transfer is higher in smokers. *Fertil Steril*. 1995; 64: 599-603.
178. Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, Clarke R, Sholler PF, Lirio AA, Foss C, Reiter R, Trock B, Paik S, Martin MB. Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat Med*. 2003; 9: 1081-4
179. Zhang W, Jia H. Effect and mechanism of cadmium on the progesterone synthesis of ovaries. *Toxicology*. 2007; 239: 204-12
180. Liu J, Huang H, Zhang W, Li H. Cadmium-induced increase in uterine wet weight and its mechanism. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2010; 89: 43-9.
181. Baba T, Mimura J, Nakamura N, Harada N, Yamamoto M, Morohashi K, et al. Intrinsic function of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor as a key factor in female reproduction. *Mol Cell Biol*. 2005; 25: (22)10040-51.
182. Denison MS, Soshilov AA, He G, DeGroot DE, Zhao B. Exactly the same but different: promiscuity and diversity in the molecular mechanisms of action of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor. *Toxicol Sci*. 2011; 124: (1)1-22.
183. Kopec AK, Burgoon LD, Ibrahim-Aibo D, Burg AR, Lee AW, Tashiro C, et al. Automated dose-response analysis and comparative toxicogenomic evaluation of the hepatic effects elicited by TCDD, TCDF, and PCB126 in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci*. 2010; 118:286–297.
184. Korashy HM, El-Kadi AO. Regulatory mechanisms modulating the expression of cytochrome P450 1A1 gene by heavy metals. *Toxicol Sci*. 2005; 88: (1)39-51.

185. Elassar A, Liu X, Scranton V, Wu C, Peluso J. The relationship between follicle development and progesterone receptor membrane component-1 (PGRMC1) expression in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2012; 97:572-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.12.026
186. Cavallini A, Lippolis C, Vacca M, Nardelli C, Castegna A, Arnesano F, Carella N, Depalo R. The Effects of Chronic Lifelong Activation of the AHR Pathway by Industrial Chemical Pollutants on Female Human Reproduction. *PLoS One*. 2016 Mar 23; 11(3): e0152181.
187. Peluso JJ, Pru JK. Non-canonical progesterone signaling in granulosa cell function. *Reproduction*. 2014; 147(5): 169-78.