



**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI**

**İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**ATATÜRK EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**UZMANLIK TEZİ**

**TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARINDA İNTRAUTERİN  
LIF SİTOKİN VE CD34 ANJİYOGENEZ MARKERLARININ  
ROLÜ**

**DR. ÇAĞLASU SANCAKTAR**

**TEZ DANIŞMANI**

**DOÇ.DR. MUSTAFA ŞENGÜL**

**İZMİR-2025**

# ÖZET

## TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARINDA İNTRAUTERİN LIF SİTOKİN VE CD34 ANJİYOGENEZ MARKERLARININ ROLÜ

Dr. Çağlasu SANCAKTAR

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye, 2025

**Amaç:** İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde, tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) olan hastalardan, salin infüzyon sonohisterografi (SIS) uygulaması sırasında endometrial yıkama sıvısı örnekleri alınarak, bu sıvıda CD34 anjiyogenez ve LIF sitokin belirteçlerinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Bu çalışmada amacımız SIS uygulaması esnasında TGK olan hastalardan endometrial yıkama sıvısı örnekleme olarak bu sıvıda baktığımız CD34 ve LIF Sitokin markerlarını inceleyerek TGK'nın mekanizmasını aydınlatmak ve geleceğe yönelik bu markerları tanımlamak adına uygun tanı yöntemlerini geliştirmektir.

**Yöntem:** Bu prospektif vaka-kontrol çalışmasına, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Polikliniği'ne başvuran 18 yaş üzerindeki, hiçbir düşük nedeni bulunmayan 2 veya daha fazla gebelik kaybı olan 31 kadın hasta grubu olarak; 2 veya daha fazla canlı doğum yapmış, gebelik kaybı olmayan 34 kadın ise kontrol grubu olarak alındı.. Endometrial polip varlığından şüphelenen, (polip ön tanısı ile histeroskopi planlanan ancak endometrial anormallik saptanmayan hastalardan) bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan hasta ve kontrol grubuna SIS uygulandı. CD34 ve LIF ekspresyon seviyelerinin menstrüel siklusun günlerine göre değişiklik göstermesi nedeniyle hastaların homojenizasyonu açısından hem çalışma hem de hasta grubunda işlem zamanlaması geç luteal faz yani siklusun 19-24. günleri arasında belirlendi. Bu işlem uygulandığı sırada uterus yıkama sıvısı örneği alındı. Tüm steril tüpler -40 derecede güvenli koşullar ile saklandı. Toplanan tüm kitler sonrasında aynı anda ELISA yöntemi ile çalışıldı.

**Bulgular:** Çalışma grubundaki hastalardan alınan LIF kontrol grubundakilerden alınanlara göre istatistiksel olarak daha düşük olarak saptandı (sırasıyla, medyan 6,3 pg/ml'ye karşılık 7,7 pg/ml,  $p<0,001$ ). Öte yandan, CD34 seviyeleri TGK grubunda kontrol grubuna kıyasla hafif yüksek bulunmuştur (medyan 13,2 ng/ml'ye karşılık 12,2 ng/ml), ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasının ( $p=0,237$ ) yanı sıra CD34' ü yüksek olan hastalarda CD34'ü düşük olan hastalarla kıyaslandığında TGK kaybı görülme oranının CD34'ü yüksek olan hastalarda daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ( $p=0,03$ )

**Sonuç:** Bu çalışma, TGK hastalarında LIF seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğunu ve yüksek öngörücülüğe sahip olduğunu, CD34 seviyelerinin ise kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediğini ortaya koymaktadır. LIF ve CD34'ün TGK etiolojisindeki potansiyel rolünü daha iyi anlamak ve klinik uygulamalara yönelik olası hedefler belirlemek için, daha büyük ölçekli, çok merkezli ve prospektif çalışmalar gerekmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** Tekrarlayan gebelik kaybı, Lösemi inhibitör faktör, CD34, İntrauterin yıkama sıvısı, Salin İnfüzyon Sonografi(SIS)

# ABSTRACT

## THE ROLE OF INTRAUTERINE LIF CYTOKINE AND CD34 ANGIOGENESIS MARKER IN RECURRENT PREGNANCY LOSS

**Dr. Çağlasu SANCAKTAR**

**Izmir Katip Celebi University, Faculty of Medicine, Department of Gynecology and Obstetrics, İzmir, Türkiye, 2025**

**Objective:** This study aims to investigate the underlying mechanisms of recurrent pregnancy loss (RPL) by analyzing CD34 angiogenesis and LIF cytokine markers in endometrial lavage fluid samples obtained from patients undergoing saline infusion sonohysterography (SIS) at İzmir Katip Çelebi University Atatürk Training and Research Hospital. Our aim in this study is to collect endometrial wash fluid samples from patients with RPL during SIS application, examine the CD34 and LIF cytokine markers in this fluid, elucidate the mechanism of RPL, and develop appropriate diagnostic methods for identifying these markers in the future.

**Method:** This prospective case-control study included 31 women aged 18 years or older, who presented to the outpatient clinic of İzmir Katip Çelebi University Atatürk Training and Research Hospital and had experienced two or more pregnancy losses with no identifiable cause, as the patient group. The control group consisted of 34 women with no history of pregnancy loss who had given birth to at least two live infants. Saline infusion sonography (SIS) was performed on both the patient and control groups, who were suspected of having endometrial polyps (Patients scheduled for hysteroscopy with a preliminary diagnosis of polyps but without detected endometrial abnormalities) and had signed the informed consent form. To ensure homogeneity, the timing of the procedure was standardized to the late luteal phase (days 19–24 of the menstrual cycle) in both groups, as CD34 and LIF expression levels vary depending on the menstrual cycle phase. During the procedure, uterine lavage fluid samples were collected. All sterile tubes were stored under secure conditions at -

40°C. After the collection of all samples was completed, ELISA assays were performed simultaneously.

**Results:** The LIF levels in the patient group were statistically significantly lower than those in the control group (median 6.3 pg/ml vs. 7.7 pg/ml,  $p < 0.001$ ). Although CD34 levels were found to be slightly higher in the RPL group compared to the control group (median 13.2 ng/ml vs. 12.2 ng/ml), this difference did not reach statistical significance ( $p = 0.237$ ). Nevertheless, when patients were stratified according to CD34 levels, those with elevated CD34 levels exhibited a significantly higher incidence of recurrent pregnancy loss compared to those with lower CD34 levels ( $p = 0.03$ ).

**Conclusion:** This study demonstrates that LIF levels are statistically significantly lower in patients with recurrent pregnancy loss (RPL) and exhibit high predictive value, whereas CD34 levels, despite being higher in the patient group compared to the control group, do not show a statistically significant difference. To gain a deeper understanding of the potential role of LIF and CD34 in the etiology of RPL and to identify possible targets for clinical applications, larger-scale, multicenter, and prospective studies are required.

**Keywords:** Recurrent pregnancy loss, Leukemia inhibitory factor, CD34, Intrauterine lavage fluid, Saline infusion sonography (SIS)

# TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresince ve tez çalışmam boyunca yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve her konuda bilgisinden faydalanma fırsatı tanıdığı için minnettar olduğum sayın danışman hocam Doç. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e,

Asistanlık eğitim sürecim boyunca yol gösterici olan, her konuda desteklerini hissettiğim, kendilerinden çok şey öğrendiğim hocalarım; Prof. Dr. Esra Bahar GÜR, Prof. Dr. Serpil AYDOĞMUŞ, Doç. Dr. Hüseyin AYDOĞMUŞ, Prof. Dr. Aykut ÖZCAN'a ve özellikle engin bilgilelerinden oldukça faydalandığım eğitimimde büyük katkıları bulunan Doç. Dr. Seçil KARACA KURTULMUŞ ve Op. Dr. Mustafa BAĞCI başta olmak üzere ve birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm hocalarıma ve uzmanlarıma,

Tez sürecimde bilgilerimi ve desteğini benden esirgemeyen Prof. Dr. Selçuk Kaya'ya,

Acısıyla tatlısıyla birçok şeyi birlikte paylaştığımız yeri geldiğinde birbirimizden birçok şey öğrendiğimiz asistan hekim arkadaşlarıma,

Kliniğimizde, ameliyathanede ve polikliniklerimizde çalışan zorlu çalışma şartlarımızı kolaylaştıran ebe, hemşire ve personellerimize,

Her konuda her zaman desteğini hissettiğim zorlu asistanlık sürecini çekilir kılan canım arkadaşım Op.Dr. İrem SERGİ'ye,

Bugün olduğum kişi olmamı sağlayan, her koşulda desteklerini arkamda hissettiğim, mesleklerini derin bir sevgi ve adanmışlıkla icra eden ve bana da bunu aşıl原因an iki hekimin kızı olmaktan gurur duyduğum sevgili babam Op. Dr. Ahmet Refik KELEŞ'e ve sevgili annem Dr. Tomris KELEŞ'e,

Son olarak, beni hep bir adım ileri taşıyan, desteğini her zaman hissettiğim, hayatımın en büyük şansını, meslektaşım ve sevgili eşim Dr. Ömer SANCAKTAR'a,

Sonsuz teşekkür ederim.

# İçindekiler

ÖZET .....	ii
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜRLER .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ŞEKİL LİSTESİ .....	ix
TABLO LİSTESİ .....	x
KISALTMA LİSTESİ .....	xi
<b>1 GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2 GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1 Tekrarlayan Gebelik Kaybı .....	3
2.1.1 Epidemiyoloji .....	3
2.1.2 Risk Faktörleri .....	4
2.1.2.1 Epidemiyolojik Faktörler .....	4
2.1.2.2 Trombofilik Faktörler .....	5
2.1.2.3 Genetik Faktörler .....	6
2.1.2.4 Anatomik Faktörler .....	8
2.1.2.5 Endokrin Faktörler .....	9
2.1.2.6 Enfektif Faktörler .....	10
2.1.2.7 Erkek Faktörleri .....	11
2.1.2.8 İmmünolojik Faktörler .....	12
2.1.3 Önerilen Tetkikler .....	15
2.1.4 Yönetim .....	18
2.2 Lösemi İnhibitör Faktör .....	21
2.3 CD34 .....	22

<b>3</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE BULGULAR.....</b>	<b>27</b>
4.1	İstatistiksel Analiz.....	27
4.2	Bulgular .....	29
<b>5</b>	<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>SONUÇ.....</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>KAYNAKÇA .....</b>	<b>46</b>



# Şekiller Listesi

Şekil 3.1 Dahil edilme ve dışlama kriterlerine göre çalışmadaki hasta sayısı.....	24
Şekil 4.1 LIF'in tekrarlayan gebelik kaybını öngörücülüğü için çizilen ROC eğrisi .....	34
Şekil 4.2 CD34'ün tekrarlayan gebelik kaybını öngörücülüğü için çizilen ROC eğri- Si.....	35
Şekil 4.3. LIF için belirlenen eşik değere göre ( $\leq 7,5$ pg/ml) tekrarlayan gebelik kaybı varlığının dağılımı.....	37
Şekil 4.4. CD34 için belirlenen eşik değere göre ( $>9,5$ ng/ml) tekrarlayan gebelik kaybı varlığının dağılımı.....	37

# Tablolar Listesi

Tablo 4.1 Tüm hastaların demografik ve karakteristik özellikleri .....	29
Tablo 4.2 İki grubun demografik ve karakteristik özellikler açısından karşılaştırılması.....	31
Tablo 4.3 İki grubun bazı kan biyokimyasal parametreleri açısından karşılaştırılması.....	32
Tablo 4.4 İki grubun LIF ve CD34 açısından karşılaştırılması.....	33
Tablo 4.5 LIF ve CD34'ün tekrarlayan gebelik kaybı açısından öngörücülüğünün incelenmesi.....	36
Tablo 4.6 LIF ve CD34 için belirlen eşik değerlere göre hastaların gruplanması ve bu eşik puanlarına göre düşük ve yüksek değere sahip olan hastalar arasında tekrarlayan gebelik kaybı oranlarının karşılaştırılması.....	38
Tablo 4.7 Primer TGK ile Sekonder TGK'nin LIF ve CD34 açısından karşılaştırılması.....	39

# Kısaltmalar Listesi

<b>TGK</b>	Tekrarlayan Gebelik Kaybı
<b>LIF</b>	Lösemi İnhibitör Faktör
<b>SİS</b>	Saline İnfüzyon Sonografi
<b>ESHRE</b>	Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği
<b>VTE</b>	Venöz Tromboembolizm
<b>APS</b>	Antifosfolipid Sendromu
<b>ACL</b>	Antikardiyolipin antikoru
<b>MTHFR</b>	Methylenetetrahydrofolate redüktaz
<b>KUA</b>	Konjenital Uterin Anomaliler
<b>KE</b>	Kronik Endometrit
<b>TSH</b>	Tiroid Stimüle edici Hormon
<b>PKOS</b>	Polikistik over sendromu
<b>SDF</b>	Sperm DNA Fragmentasyon
<b>NK</b>	Naturel Killer
<b>UFH</b>	Fraksiyone Edilemiş Heparin
<b>LA</b>	Lupus Antikoagulanı
<b>LMWH</b>	Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin
<b>PGT</b>	Preimplantasyon Genetik Test
<b>IVIG</b>	Intravenöz immunoglobulin

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelik kaybı (düşük), fetüsün yaşama yeteneğine ulaşmadan önce gebeliğin kendiliğinden sonlanması olarak tanımlanır. Bu terim, gebeliğin başlangıcından itibaren 24. gebelik haftasına kadar gerçekleşen tüm gebelik kayıplarını (TGK) kapsar. Tanım olarak, 'tekrarlayan' gebelik kaybı (TGK) iki veya daha fazla gebeliğin kaybı olarak tanımlanır. Ancak, bu tanımın genişletilmesi veya daraltılması gerekip gerekmediği net değildir; farklı kılavuzlar ve ülkelerde kullanılan tanımlar bu belirsizliği göstermektedir. (1) Yaş ilerledikçe görülme oranı artmakta olup, 20 ila 45 yaş arasındaki kadınların %10 ile %50'si bu durumdan etkilenebilir. (2)

Lösemi İnhibitör Faktörü (LIF) ve glikoprotein CD34, anjiyogenez süreçlerinde görev olarak endometriyal fonksiyonel aktiviteyi değerlendirmek için belirteç olarak kullanılabilir. LIF, hücre farklılaşmasını baskılayan çok yönlü bir sitokindir. Endometriyumun fonksiyonel tabakasındaki seviyesi, siklusun proliferatif fazında düşüş gösterir, ovülasyondan sonra yükselir, orta sekretuar fazda maksimuma ulaşır ve adet döngüsünün sonuna kadar yüksek seviyelerde kalır. Menstruasyon başladığında ise seviyesinde düşüş gözlenir. (3) Bu faktör, embriyo implantasyon sürecinde temel bir rol oynar. İlgili sitokin, desidualizasyonun düzenlenmesi, blastositin büyüme ve gelişimi, embriyo-endometriyum etkileşimleri, trofoblast invazyonu ve immünomodülasyon süreçlerinde kritik bir düzenleyici işlev üstlenir. (4) LIF üretimindeki anomaliler, blastostokistin implantasyonunu ve trofoblastın invazyonunu engelleyerek erken gebelik kayıplarına yol açar. (5)

Membranöz bir protein olan CD34, etkili implantasyon ve plasentasyon için gerekli olan bir adezyon molekülüdür. Bu protein, hematopoetik hücre ve vasküler endotelyosit prekürsörlerinin erken farklılaşma belirteci olarak işlev görür: prekürsör hücrelerin farklılaşmamış durumunun korunmasında rol oynar. (6) Trofoblast

villuslarının anjiomatozisinde CD34 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir. Trofoblast villuslarında görülen anjiomatozis, CD34 ekspresyonunda belirgin bir artış ile ilişkilendirilmiştir. (7)

Tekrarlayan düşüklerin meydana gelmesiyle ilgili mekanizmalar tam olarak anlaşılmamıştır. Son on yılda Doğal Öldürücü hücrelerin düşükle ilişkili olup olmadığını belirlemek için NK hücrelerinin spesifik özellikleri periferik kan ve uterusunda incelenmiştir. Ancak CD34 ve LIF markerları adına yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Saline İnfüzyon Sonografi (SIS) genellikle anormal uterin kanaması olan ya da fertilité problemi yaşayan hastalara uterin kaviteyi değerlendirme amacı ile kullanılmaktadır. (8) Bu çalışmada amacımız SIS uygulaması esnasında TKG olan hastalardan endometrial yıkama sıvısı örnekleme olarak bu sıvıda baktığımız CD34 ve LIF Sitokin markerlarını inceleyerek TKG'nın mekanizmasını aydınlatmak ve geleceğe yönelik bu markerları tanımlamak adına uygun tanı yöntemlerini geliştirmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Tekrarlayan Gebelik Kaybı

Tekrarlayan gebelik kaybı ile ilgili kullanılan terminoloji ve tanımlar oldukça farklılık göstermektedir. Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM), "tekrarlayan gebelik kaybı" terimini kullanmaktadır ve iki adet birinci trimester gebelik kaybı sonrası klinik değerlendirme önerir (ultrasonografi veya histopatolojik inceleme ile belgelenmiş). Ancak, epidemiyolojik çalışmalar için üç veya daha fazla kayıp olması gerektiği belirtilmektedir. (9), (10)Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE), 2017 yılına ait rehberinde, rehber grubundaki üyeler arasında görüş ayrılıkları olduğunu belirtmiş ve iki veya daha fazla gebelik kaybı tanımını kabul etmiştir. Biz de çalışmamızı ESHRE'nin kriterlerini kabul ederek yaptık. Primer TGK, 24. haftadan sonra devam eden bir gebelik geçirmemiş olan birden fazla düşük olarak tanımlanırken, Sekonder TGK, 24. haftadan sonra bir veya daha fazla başarılı gebelik yaşayan bir kadında meydana gelen tekrarlayan gebelik kaybıdır. Bu ayrım, tekrarlayan gebelik kayıplarını hastanın gebelik geçmişine göre sınıflandırmada kullanılır. Gebelik tanımı, en azından serum veya idrar b-hCG ile doğrulanmalıdır; bu, gözle görülmeyen gebelik kayıplarını (biyokimyasal gebelik kayıpları ve/veya bilinmeyen lokalizasyonda tedavi edilen gebelikleri) içerir. (11)

#### 2.1.1 Epidemiyoloji

Gebeliğin iki türü vardır: sporadik ve tekrarlayan. Sporadik düşük, genellikle ilk trimesterde meydana gelir ve sıklıkla rastgele fetal kromozomal anormalliklerden kaynaklanır. (12) (13) Sporadik düşüklerin görülme sıklığı yaşla birlikte artar ve 20-45 yaş arasındaki kadınların yaklaşık %10 ile %50'sini etkileyebilir. Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) daha az yaygındır.(2) TGK'nin, son adet tarihinden önce 20.

haftaya kadar ardışık üç gebelik kaybı olarak tanımlandığında, kadınların yaklaşık %1 ile %2'sini etkilediği bildirilmiştir. (14) Larsen ve arkadaşları yalnızca klinik düşüklerin (ultrason ve/veya histoloji ile doğrulanmış) dahil edildiği durumlarda, prevalansın %0.8 ile %1.4 arasında olduğunu rapor etmiştir. Ancak, biyokimyasal kayıplar da dahil edildiğinde bu oran %2 ile %3'e yükselmektedir. (15) Bazı özellikler, tekrarlayan gebelik kaybının yalnızca rastlantısal olarak meydana gelen üç sporadik düşükten ziyade farklı bir klinik durum olduğunu düşündürmektedir:

1. Bir kadının düşük yapma riski, önceki gebeliklerinin sonuçlarıyla doğrudan ilişkilidir.

2. Tekrarlayan düşüklerin gözlemlenen ortalama sıklığı, yalnızca rastlantı ile beklenenden daha yüksektir.

3. Sporadik düşüklerden farklı olarak, tekrarlayan düşükler, fetüs kromozomal anormalliklere sahip olmasa bile meydana gelme eğilimindedir. (16)

Genel olarak, tekrarlayan gebelik kaybı insidansının en büyük belirleyicisi yaştır. (17) Önceki düşüklerin sayısı ise tüm yaş gruplarında canlı doğum şansını etkiler. (18) Tekrarlayan gebelik kaybı insidansı, tanımda iki düşük kriteri kullanıldığında iki kattan fazla artmaktadır. Yapılan meta-analizler, iki düşük için bu riskin %1.9 (1.8–2.1), üç düşük için ise %0.7 (0.5–0.8) olduğunu göstermektedir. (19)

## 2.1.2 Risk Faktörleri

### 2.1.2.1 Epidemiyolojik Faktörler

İleri yaştaki kadınların tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) ile ilişkili olduğu birçok çalışmada tutarlı bir şekilde gösterilmiştir. Cauchi ve arkadaşları, iki kohort (n=119+165) üzerinde yaptıkları çalışmada, 30 yaş altındaki kadınların TGK sonrasında takip eden gebeliklerde başarı oranlarının anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu ve 30 yaş üzerindeki kadınların ise TGK bağlamında gebelik kaybı riski taşıdığını belirlemişlerdir. (20) İleri anne yaşı, hem kalan oosit sayısında hem de

kalitesinde bir azalmaya yol açarak fertilize olan embriyolarda anöploidlik oranlarının artmasına neden olur. Büyük bir prospektif kayıt bağlantı çalışması, gebelik kaybı ile yaşa bağlı riski şu şekilde tahmin etmiştir: 12-19 yaş, %13; 20-24 yaş, %11; 25-29 yaş, %12; 30-34 yaş, %15; 35-39 yaş, %25; 40-44 yaş, %51; ve 45 yaş ve üzeri, %93.(2) Gözlemsel çalışmalar, akraba evliliği ile tekrarlayan düşük arasında bir ilişki olduğunu göstermemiştir. (21)

Gözlemsel bir veritabanı çalışması, haftada beş (5) veya daha fazla alkollü içecek (yaklaşık 10 ünite/hafta) tüketen kadınlarda ilk trimesterde kendiliğinden düşük riskinin arttığını göstermiştir. (22) Benzer şekilde, artan kafein alımı ile aralıklı düşük arasında bir ilişki olduğuna dair bazı kanıtlar vardır. (23)

#### 2.1.2.2. Trombofilik Faktörler

Venöz tromboembolizme (VTE) yatkınlık oluşturan çeşitli genetik nedenler tanımlanmış olup, genellikle tromboembolik bir olay yaşayan hastalar veya aile üyeleri arasında test edilmektedir. Ancak, venöz tromboembolizm bağlamında bu testlerin ve tedavinin değeri hala tartışmalıdır. (24) Genetik trombofilik faktörleri, TGK olan kadınlarda değerlendirilmiştir, çünkü TGK'nin olası bir nedeni olarak kabul edilmekte ve ciddi obstetrik komplikasyonlarla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu faktörler arasında Faktör V Leiden mutasyonu, Protrombin mutasyonu, Protein C, Protein S ve Antitrombin eksikliği yer almaktadır.

Antifosfolipid sendromu (APS), antifosfolipid (aPL) antikorları (lupus antikoagülanı, antikardiyolipin (aCL) antikorları ve anti-beta-2-glikoprotein-I antikorları) ile olumsuz gebelik sonuçları veya vasküler tromboz arasındaki ilişki olarak tanımlanır. (25) (26) Lupus antikoagülanının tekrarlayan düşük ile en güçlü ilişkiye sahip olduğu bulunmuştur (OR 7.79; %95 CI 2.30–26.45). IgG ve IgM aCL antikorları ise tekrarlayan düşük ile ikinci en güçlü ilişkiye sahip olup, olasılık oranları sırasıyla 3.57 (%95 CI 2.26–5.65) ve 5.61 (%95 CI 1.26–25.03) olarak belirlenmiştir. Anti-beta-2-glikoprotein-I antikorlarının pozitif bir ilişki gösterdiği eğilim saptanmış,

ancak bu ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (OR 2.12, %95 CI 0.69–6.53). Bu nedenle yazarlar, anti-beta-2-glikoprotein-I antikorlarının tekrarlayan düşüklerdeki rolünü netleştirmek için daha fazla çalışma yapılmasını önermektedir. Öte yandan, fosfatidik asit, fosfatidil kolin, fosfatidil etanolamin, fosfatidil gliserol, fosfatidil inositol ve fosfatidil serin gibi diğer antifosfolipid antikorlarının klinik testlerine ilişkin sınırlı veri bulunmaktadır. Yapılan ön çalışmalar, bu testlerin tanıya ek bir değer veya duyarlılık sağlamadığını göstermektedir. (27)

Protein C, Protein S ve Antitrombin gibi antikoagülan proteinlerin kalıtsal eksiklikleri daha nadir görülmekle birlikte, Faktör V Leiden ve Protrombin mutasyonuna kıyasla venöz tromboembolizm ile daha güçlü bir ilişkiye sahiptir. Yapılan bir derlemede, bu proteinlerin eksiklikleri ile TGK arasında güçlü veya anlamlı bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir. (28)

Methylenetetrahydrofolate redüktaz (MTHFR) gen polimorfizmleri geçmişte kalıtsal trombofili faktörü olarak sınıflandırılmıştır, ancak artık tromboz riski açısından rutin değerlendirme kapsamında kabul edilmemektedir. (29)

TGK ile kalıtsal trombofili arasında ya hiç ilişki yoktur ya da en iyi ihtimalle zayıf bir ilişki vardır. TGK yaşayan kadınlarda kalıtsal trombofili taraması yapılmaması yönündeki öneri, Amerikan Göğüs Hastalıkları Derneği'nin VTE, trombofili, antikoagülan tedavi ve gebelik konusundaki kılavuzundaki önerilerle benzerdir. (30)

### 2.1.2.3 Genetik Faktörler

Embriyonun genetik anormallikleri, sporadik ve TGK'nın bilinen bir nedenidir. Bir sistematik derlemede, tek bir sporadik gebelik kaybında kromozom anormalliklerinin prevalansı %45 olarak bulunmuştur (95%CI 38-52; 13 çalışma; 7012 örnek). Önceki TGK sonrası gerçekleşen bir sonraki gebelik kaybında kromozom anormalliklerinin prevalansı ise benzer düzeyde olup, %39 olarak belirlenmiştir (95%CI 29-50; 6 çalışma; 1359 örnek). (31)

Yeni moleküler tekniklerle, %5–7 arasında daha küçük boyutlu varyantların da tespit edilebileceği dikkate değerdir. (32) Bu durum, mikroarray tekniklerini kullanan daha yeni çalışmalarda, sporadik gebelik kayıpları yaşayan kadınlarda sitogenetik anormalliklerin oranının %59.4'e kadar (1106/2389) çıktığını göstermektedir. (33) Normal karyotipli gebelik kayıpları incelendiğinde, embriyo mikroskopi çalışmalarında fetüslerin %18'inde morfolojik bozukluklar olduğu da gösterilmiştir. Ancak, bunun anne faktörlerinden mi yoksa geleneksel kariyotiplemede belirgin olmayan fetal genetik anormalliklerden mi kaynaklandığı net olarak belirlenmemektedir. (34) Çalışmalar, euploid gebelik kayıplarının sayısının arttıkça, sonraki gebelik kaybı olasılığının da arttığını göstermiştir. (35) Bu durum, sporadik anöploididen ziyade kalıcı bir anne patolojisinin daha yüksek olma olasılığına bağlanmaktadır. Aynı şekilde, anöploid embriyo bulunması, sonraki gebelikte daha iyi bir prognozla ilişkilendirilmiştir. (36) Ancak bu, kadınların yaşına bağlı olduğu varsayımıyla geçerlidir, çünkü yaşı daha büyük bir kadın, anöploid kaybı yaşayan yaşı daha genç bir kadına göre daha kötü bir prognoza sahip olabilir. Ebeveyn kromozom anormalliklerinde ise durum farklı olabilir, çünkü bu vakalarda embriyonik anöploidi, ebeveynin patolojisinin bir sonucu olup, sporadik bir durum değildir.

Ebeveyn kromozomal düzenlemelerin sıklığı, tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili gibi görünmektedir. Büyük bir veritabanı çalışması, bir gebelik kayıptan sonra ebeveynlerde translokasyon görülme oranının %2.2, iki gebelik kayıptan sonra %4.8, üç gebelik kayıptan sonra ise %5.7 olduğunu tahmin etmiştir. (37) Ancak yapılan çalışmalar, dengeli translokasyonu olan ebeveynlerin, ikinci trimesterde hayatta kalabilen ve dengesiz karyotipe sahip bir gebelik geçirme riskinin düşük olduğunu (%0.8) ve dengesiz kromozomal anormallikle doğan engelli bir çocuk sahibi olma olasılığının çok düşük olduğunu (%0.02) bildirmiştir. (38) Franssen ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, dengeli yapısal kromozom anormalliği olan ebeveynlerin sağlıklı bir çocuk sahibi olma olasılığının %83 olduğu, bu oranın kontrol çiftleriyle (84%) benzer olduğu bulunmuştur. (39) Ancak, bu ebeveynlerin, kontrol grubuna kıyasla sonraki bir gebelik kaybı yaşama olasılıklarının daha yüksek olduğu saptanmıştır (%49'a karşı %30;  $P < 0.01$ ). (40) Bu bulgu, diğer daha yeni çalışmalar tarafından da desteklenmiştir. Ebeveynlerin kromozomal düzenlemelerinin türü ile

sonraki gebelik kaybı riski arasındaki ilişki, düzenlemenin türüne bağlı gibi görünmektedir; çünkü karşılıklı translokasyonlar, inversiyonlar, Robertsonian translokasyonları ve diğer kromozomal anomalilerle ilişkili gebelik kaybı oranları sırasıyla %54, %49, %34 ve %27 olarak bulunmuştur.(39)

#### 2.1.2.4 Anatomik Faktörler

Konjenital uterin anomalilerin (KUA) sıklığının, gelişmiş tanısal görüntüleme yöntemleri sayesinde daha önce düşünülenenden daha yüksek olduğu görünmektedir. (41) Bir sistematik derleme ve meta-analiz, konjenital uterin anomalilerin prevalansını, seçilmemiş kadınlarda %5.5 (95% CI 3.5–8.5%), infertil kadınlarda %8.0 (95% CI 5.3–12%), tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda %13.3 (95% CI 8.9–20.0%) ve infertilite ve gebelik kaybı yaşayan kadınlarda %24.5 (95% CI 18.3–32.8) olarak tahmin etmiştir. Tüm popülasyonlar arasında en yaygın anomaliler, kanalizasyon defektleri (yani septat tip) olup, bunu birleşim defektleri (yani bikornuat ve unikonuat tipleri) takip etmektedir. (42)

Reprodüktif sonuçlar açısından, bir meta-analiz, arkuat uterus (RR 1.22, 95% CI 0.87–1.72; altı çalışma), didelfis uterus (RR 1.13, 95% CI 0.45–2.86; dört çalışma) ve unikonuat uterus (RR 1.38, 95% CI 0.83–2.28; beş çalışma) olan kadınlarda, normal kontrol gruplarına kıyasla, sporadik birinci trimester gebelik kaybı riskinin anlamlı şekilde artmadığını göstermiştir. Bununla birlikte, septat uterus (RR 2.65, 95% CI 1.39–5.06; altı çalışma) ve bikornuat uterus (RR 2.32, 95% CI 1.05–5.13; dört çalışma) olan kadınlarda, normal kontrol gruplarına kıyasla sporadik birinci trimester gebelik kaybı riski anlamlı şekilde artmıştır. (43)

Edinilmiş uterin malformasyonlar (submuköz miyomlar, endometrial polipler ve uterin adezyonlar) gebelik kaybı yaşayan kadınlarda yaygın olarak bulunmuş, ancak klinik önemi net olarak belirlenememiştir. (44) Jaslow'un bir çalışmasında, TGK yaşayan 113 kadında edinilmiş defektler (%12.9), 61 kadında konjenital defektler (%7.0) ve 5 kadında (%0.6) hem konjenital hem de edinilmiş defektler bulunmuştur. (45) Saravelos ve arkadaşları, TGK yaşayan kadınların %8.2'sinde (79/966) myoma uteri varlığı tespit etmiştir. (46)

Diğer uterin patolojiler de anatomik incelemelerde değerlendirilmelidir, örneğin kronik endometrit ve adenomyozis. Birçok çalışma, kronik endometritin (KE) infertil hastalarda daha yaygın olduğunu ve TKG'nin başka bir nedeni olabileceğini göstermektedir 11 karşılaştırmalı çalışmayı içeren bir meta-analiz, adenomyozisi olan kadınlarda gebelik kaybı oranının, adenomyozisi olmayanlara göre daha yüksek olduğunu (OR 2.20; 95% CI 1.53-3.15) göstermiştir. (47)

### 2.1.2.5 Endokrin Faktörler

Sistemik maternal endokrin bozukluklar, örneğin diabetes mellitus ve tiroid hastalıkları, gebelik kaybı ile ilişkilendirilmiştir. İlk trimesterde yüksek hemoglobin A1c seviyelerine sahip diyabetli kadınlar, gebelik kaybı ve fetal malformasyon riski altındadır. (48) Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda diabetes mellitus ve tiroid fonksiyon bozukluklarının sıklığı, genel popülasyonda rapor edilenle benzer görünmektedir. (49) Ancak, subklinik hipotiroidizm (bu durumda TSH'nin(Tiroid Stimüle edici Hormon) 2.5 mIU/l'den yüksek olması olarak tanımlanmıştır) sıklığının, tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarla yapılan küçük bir gözlemsel çalışmada arttığı bildirilmiştir. (50) Ayrıca, sporadik gebelik kayıplarına dair bir meta-analizden elde edilen veriler bu duruma bir ilişki olduğunu göstermektedir. (51) Bu durum, tiroid otoimmunitesiyle ilişkilendirilen subklinik tiroid fonksiyon bozuklukları için de geçerlidir. İki sistematik derleme ve meta-analiz, tiroid antikörlerinin varlığının, tekrarlayan gebelik kaybı riskinin arttığıyla ilişkilendirildiğini bildirmiştir.(52,53)

Polikistik over sendromu (PKOS), gebelik kaybı riskinin arttığıyla ilişkilendirilmiştir, ancak kesin mekanizma henüz netleşmemiştir. (54) PKOS'lu kadınlarda gebelik kaybı riskinin artışı, yine de insülin direnci, hiperinsülinemi ve hiperandrojenemiye bağlanmaktadır. İnsülin direnci prevalansı ve anormal glukoz tolerans testi, tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda kontrol grubuna kıyasla artmış görünmektedir. (55) Yüksek serbest androjen indeksi, tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda sonraki bir gebelik kaybı için prognostik bir faktör gibi görünmektedir.(54)

Prolaktin dengesizlikleri, tekrarlayan gebelik kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Bir çalışmada, tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda prolaktin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla arttığı bildirilmiştir.(49) Diğer bir çalışmada ise canlı doğum yapan ve tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlar arasında prolaktin seviyelerinin biraz daha düşük olduğu rapor edilmiştir. (56) 48 kadınla yapılan küçük bir randomize kontrollü çalışmada, tekrarlayan gebelik kaybı ve hiperprolaktinemi olan kadınlar bromokriptin kullanılan ve bromokriptin kullanılmayan gruplara rastgele atanmış ve canlı doğum oranlarında anlamlı farklar bulunmuştur (%85.7'ye karşı %52.4,  $P < 0.05$ ). (57) Genel olarak, prolaktin seviyelerinin normal düzeyde tutulmasının faydalı olabileceği görünmektedir.

Luteal faz defektinin tanısı literatürde önemli ölçüde farklılık göstermekte ve bu da değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Bir çalışmada, tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda luteal faz defektinin (orta luteal progesteron seviyesi 30 nmol/l'den az) daha yüksek bir insidansı bulunmuştur (%27'ye karşı %11), (58) diğer bir çalışmada ise luteal faz defekti (orta luteal progesteron seviyesi 10 ng/ml'den az) ile sonraki gebelik kaybı arasındaki ilişkiyi 197 tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadında bir ilişki bulunmamıştır. (59) Midluteal fazda yapılan histolojik ve serolojik incelemelerden elde edilen veriler sınırlı ve tutarsızdır.

#### 2.1.2.6 Enfektif Faktörler

Bir dizi organizma, birinci ve ikinci trimesterdeki gebelik kayıplarında rol oynamaktadır; bunlar arasında üreaplazma/mykoplazma, bakteriyel vajinozise neden olan organizmalar ve Chlamydia trachomatis yer almaktadır. (60) Gebeliğin birinci trimesterinde bakteriyel vajinozisin varlığı, gebelik kaybı ve erken doğum için bir risk faktörü olarak bildirilmiştir. (61) Ancak, birinci trimesterdeki gebelik kaybı ile ilişki konusunda kanıtlar tutarsızdır. (62)

Kronik endometrit, endometriyumda, çeşitli patojenik organizmalarla ilişkilendirilmiş plazma hücresi infiltrasyonu ile karakterizedir. TGK yaşayan kadınlarda kronik endometrit prevalansının %7-58 arasında olduğu öne süren çalışma bulunmaktadır. (63) Prevalans, tespit yöntemine bağlıdır ve histeroskopi ve/veya

CD138 antikorlarıyla immünohistokimya kullanıldığında yüksek oranlar bildirilmiştir. (64) Ancak, kronik endometrit prevalansını doğurgan olan kontrol grubu ile karşılaştıran başka bir çalışmada, prevalans oranlarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. (65) Buna karşın, artan sayıda endometrial CD138+ hücre, gelecekteki gebelik kayıpları ile artan bir riskle ilişkilendirilmiştir. (66) Antibiyotiklerin, endometriti azalttığı ve canlı doğum oranında belirgin bir iyileşme sağladığı bulunmuştur.(63) Ancak, bu kavram, randomize kontrollü çalışmalarda test edilmemiştir. Endometrit taraması yapılmadan önce, prospektif gözlemsel çalışmalar ve randomize kontrollü denemeler gibi daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu görünmektedir.

### 2.1.2.7 Erkek Faktörleri

Tekrarlayan gebelik kaybı uzun bir süre yalnızca kadın kaynaklı sorunlardan kaynaklanan bir durum olarak görülmüştür. Bir erkek gebelik elde ettiğinde, sperm hücrelerinin normal olduğu kabul edilirdi ve gebeliğin kaybı, genetik, endokrinolojik veya anatomik faktörlerden otoimmün hastalıklara kadar kadın kaynaklı anormalliklere bağlanırdı. Ardından yapılan çalışmalar bu görüşü değiştirdi.

İleri paternal yaşın, gebeliğin birinci trimesterindeki spontan gebelik kaybıyla ilişkisini araştıran bir meta-analiz, erkek yaş kategorileri 30-34, 35-39 ve 40-44 için gebelik kaybı riskinin arttığını ve bu riskin  $\geq 45$  yaş kategorisinde daha yüksek olduğunu göstermiştir. (67)

Çinli çiftler üzerinde yapılan 24 vaka-kontrol ve kohort çalışmasının yer aldığı bir sistematik inceleme ve meta-analiz, 1.690 TGK yaşayan kadının erkek partneri ve 1.337 doğurgan kontrol kadının erkek partnerini kapsayan bir çalışmada, TGK'lı kadınların erkek partnerlerinin sperm yoğunluğu (SMD= -0.53; %95 CI -0.75 ile -0.30), sperm canlılık oranı (SMD= -1.03; %95 CI -1.52 ile -0.54), sperm progresif motilite oranı (SMD= -0.76; %95 CI -1.06 ile -0.46) ve normal sperm morfolojisi oranı (SMD= -0.56; %95 CI -0.99 ile -0.12) açısından anlamlı şekilde daha düşük olduğunu

ve sperm deformitesi oranı (SMD= 1.29; %95 CI 0.60-1.97) ve sperm DNA fragmentasyon indeksi (DFI) (SMD= 1.60; %95 CI 1.04-2.17) açısından ise anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu göstermiştir. Her iki grup arasında semen hacmi (SMD= -0.03; %95 CI -0.14 ile 0.08) ve semen pH değeri (SMD= -0.23; %95 CI -0.50 ile 0.05) açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. (68) Erkek semen kalitesinin, mesleki maruziyetin ve yaşam tarzının TGK üzerindeki etkileri, 68 TGK çifti ve 63 rastgele seçilen sağlıklı kontrolün semen analizleri ve detaylı anketler üzerinden incelenmiştir. TGK grubundaki erkeklerin semenlerinde, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, sperm canlılığı, normal morfoloji ve toplam progresif sperm motilitesi anlamlı şekilde azalmış, sperm DNA fragmentasyon oranı (SDF) ise daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, sigara içme, alkol tüketme ve mesleki çevresel faktörlere maruz kalma durumları bir araya geldiğinde, TGK riski anlamlı şekilde artmıştır (OR 11.97; %95 CI 1.49-95.62). (69) Tüm bu çalışmalar ve daha fazlası, erkek faktörünün TGK için önemli bir risk faktörü haline geldiğini göstermektedir.

#### 2.1.2.8 İmmünolojik Faktörler

Seçim yanlılığının 40 çalışmada ve bilgi yanlılığının tüm çalışmalarda mevcut olduğu 41 çalışmayı içeren sistematik bir derleme ve meta-analiz, HLA (İnsan Lökosit Antijeni)-DRB14 (OR 1,41, %95 CI 1,05–1,90), HLA-DRB115 (OR 1,57, %95 CI 1,15–2,14) veya HLA-E01:01 (OR 1,47, %95 CI 0,20–1,81) alellerini taşıyan annelerde tekrarlayan düşük riskinin arttığını ortaya koymuştur. Buna karşılık, HLA-DRB113 (OR 0,63, %95 CI 0,45–0,89) veya HLA-DRB1\*14 (OR 0,54, %95 CI 0,31–0,94) alellerine sahip bireylerde riskin azaldığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, belirli HLA alelleri ile tekrarlayan düşük arasındaki ilişkiler tespit edilmesine rağmen, yazarlar, gözlemlenen olasılık oranlarının nispeten düşük olması ve mevcut çalışmalarda önemli düzeyde seçim ve bilgi yanlılığı bulunması nedeniyle kesin sonuçlara ulaşılamayacağını vurgulamıştır. (70) Başka bir çalışma, TGK ile ilişkili HLA-G polimorfizmlerini incelemiştir. Çözünür HLA-G'nin, fetomaternal ara yüzeyde natural killer (NK) hücre sitotoksitesini ve sitokin salgılanmasını düzenlediği öne sürülmektedir. Düşük plazma çözünür HLA-G seviyelerinin, HLA-G geninde HLA-G 14 bp insersiyonuna homozigot olan bireylerde daha yaygın olduğu

düşünülmektedir. Yapılan iki meta-analiz, HLA-G 14 bp insersiyonunun TGK'lı kadınlarda anlamlı şekilde artmış bir frekansta görüldüğünü bildirmiştir (sırasıyla OR 1.27 (1.04-1.55) ve 1.47 (1.13-1.91)).(71,72) Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) yaşayan çiftlerde, HLA polimorfizmleri ile sonraki gebelik sonuçları arasındaki ilişki üzerine yeterince araştırma bulunmamaktadır. Çiftlerde HLA uyumluluğu ve HLA-C alelleri açısından TGK ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar tutarsızdır. Ancak, belirli HLA-G alellerinin TGK'lı kadınlarda zayıf bir ilişki gösterdiği bildirilmiştir.

Th1/Th2 (Yardımcı T) sitokinlerindeki dengesizliğin, tekrarlayan gebelik kaybı da dahil olmak üzere olumsuz gebelik sonuçlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. (73) Bununla birlikte, sitokinlerin tekrarlayan gebelik kaybındaki rolüne yönelik araştırmalar; değişken seviyeler, kan ve endometriyal düzeyler arasındaki uyumsuzluk ve ölçümdeki laboratuvar değişkenliği gibi çeşitli faktörler nedeniyle sınırlanmaktadır. (74) Plazma seviyeleri veya in vitro üretimi, sitokin genlerindeki polimorfizmlerden etkilenen birçok sitokin, tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda da araştırılmıştır. Yapılan çalışmada, Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta 1 (*TGFBI*) veya Tümör Nekroz Faktörü Alfa (*TNF-α*) gen polimorfizmleri ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir. (75) Bununla birlikte, başka bir yapılan meta-analiz, *IL10* genotipi ile zayıf bir ilişki dışında, ilgili sitokin genlerindeki polimorfizmler ile tekrarlayan gebelik kaybı arasında anlamlı bir ilişki tespit edememiştir. (76) Mevcut araştırmalar, sitokinlerin TGK rolünü incelemeye devam etse de, değişken seviyeler, kan ve endometriyal doku arasındaki uyumsuzluk ve laboratuvar ölçüm farklılıkları gibi çeşitli faktörler bu süreci zorlaştırmaktadır. Genel olarak, sitokinlerin TGK'daki etkisini netleştirmek için daha geniş kapsamlı ve standartlaştırılmış çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bir meta-analiz, TGK yaşayan kadınların kontrol grubuna kıyasla daha yüksek periferik NK hücre yüzdesine (standartlaştırılmış ortalama fark [SMD] 1.36; %95 CI 0.04–2.69; P = 0.04) ve daha yüksek periferik NK hücre sayısına (SMD 0.81; %95 CI 0.47–1.16; P < 0.00001) sahip olduğunu göstermiştir.(60) Artmış periferik NK hücrelerinin önemi hâlâ tartışmalıdır. (77) Bu hücreler, endometriyumdaki seviyeleri yansıtmıyor gibi görünmektedir. (78) Ayrıca, tekrarlayan düşük yaşayan bir kadın

grubunda, sonraki düşükleri tahmin etmekte etkili görünmemektedirler. (79) Sonuç olarak, periferik NK hücrelerinin artışının, gebelik kayıplarını ve tekrarlayan düşükleri öngörmede tek başına güvenilir bir biyomarker olup olmadığı hala netlik kazanmamıştır.

Birçok çalışma, implantasyon zamanı civarındaki endometriyumda uterin NK hücre yoğunluğunun arttığını bildirmiştir. (80) (81) 2014 yılında yapılan bir meta-analiz, tekrarlayan düşük yaşayan kadınlar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulmamıştır. Standartlaştırılmış ortalama fark (SMD) 0.40, %95 güven aralığı (GA) ise 1.24–2.04 olarak bulunmuş ve p-değeri 0.63 olarak saptanmıştır. (82) Ancak, sistematik bir analiz yapmada karşılaşılan temel zorluk, standartlaştırılmış laboratuvar protokollerinin ve kabul görmüş bir referans aralığının eksikliğiydi. Daha sonra, çok merkezli bir çalışma grubu toplandı ve uterin NK hücre yoğunluğunu ölçme ve raporlama için laboratuvar yöntemlerinin standardizasyonu konusunda anlaşmaya vardı. (83) Buna dayanarak, Chen ve arkadaşları, doğurgan kadınlardan alınan örneklerle bir kontrol referans aralığı belirlediler. Tekrarlayan düşük yaşayan kadınlarda, tam zamanında alınmış endometriyal örneklerde uterin NK hücre yoğunluğunun anlamlı derecede arttığını buldular. (84) Bununla birlikte, uterin NK hücrelerinin ölçülmesinin prognostik değeri henüz doğrulanmamıştır. Sonuçları tahmin etmedeki rolü belirsizliğini korumaktadır.

## 2.1.2 Önerilen Tetkikler

TGK için yönlendirilen ilk ziyaret, klinisyenin hastanın geçmişini gözden geçirmesi için zaman tanınmalıdır. Bu, tıbbi, obstetrik ve aile geçmişinin yanı sıra, hem erkek hem de kadın partnerin yaşam tarzı hakkında bilgiyi de içermelidir. Yaşam tarzı faktörlerinin yanı sıra, TGK ile ilişkilendirilebilecek tıbbi durumların daha önceki tanıları hakkında da bilgi toplanmalıdır. Bu durumlar, trombofili, polikistik over sendromu (PKOS), diyabet ve kalıtsal trombofiliye dair aile öyküsünü içermektedir.

APS tanısı koymak için, kadının en az 12 hafta arayla (ve en az 6 hafta düşük sonrası) ikipozitif test yaptırması önerilir. Testler, lupus antikoagülanı veya aCL antikörlerinin IgG ve/veya IgM sınıfında, orta veya yüksek titrede (yani, 40 GPL veya MPL'den fazla, ya da %99'uncu persentilden fazla) tespit edilmelidir. Anti-beta-2-glikoprotein-I antikoru için, daha az kesin kanıt bulunmasına rağmen, IgG ve/veya IgM sınıfında yüksek titrede (yani, %99'uncu persentilden fazla) kullanılması, uygun denetim veya araştırma bağlamında yapılabilir.(26) TGK yaşayan kadınlar için, antiphosfolipid antikörleri (lupus antikoagülanı [LA] ve antikardiyolipin antikörleri [ACA], IgG ve IgM sınıflarında) taraması yapılması önerilmektedir. Bu taramanın, iki gebelik kaybı sonrası yapılması gerekmektedir. Aynı zamanda anti-beta-2-glikoprotein-I (a $\beta$ 2GPI) taraması yapılması düşünülebilir.

Daha önce de bahsedildiği gibi TGK ile kalıtsal trombofili arasında ya hiç ilişki yoktur ya da ancak zayıf bir ilişki bulunmaktadır.TGK yaşayan kadınlarda kalıtsal trombofili taraması yapmama önerisi, Amerikan Göğüs Hekimleri Koleji'nin VTE, trombofili, antikoagülan tedavi ve gebelikle ilgili kılavuzlarıyla benzerlik göstermektedir.(30) Eğer kalıtsal trombofili için ek risk faktörleri mevcutsa (örneğin, kalıtsal trombofili öyküsü olan aile bireyleri veya önceki VTE), tarama yapılması düşünülebilir. Ayrıca, araştırma ortamında, TGK yaşayan kadınlarda trombofili etkisi hakkında daha fazla veri toplamak amacıyla tarama yapılması düşünülebilir. ESHRE'nin son yayınladığı kılavuzda, TGK yaşayan kadınlar için kalıtsal trombofili taraması yapılmaması önerilmektedir. Ancak, araştırma bağlamında veya trombofili için ek risk faktörleri bulunan kadınlarda tarama yapılması düşünülebilir. (85)

Gebelik kaybı sonrası gebelik dokusunun genetik analizi rutin olarak önerilmez, ancak açıklayıcı amaçlarla yapılabilir. Yapılacaksa gebelik kaybı sonrası gebelik dokusunun genetik analizi için, azalmış anne kontaminasyonu etkisi nedeniyle array-CGH yöntemi önerilmektedir.(85)

Elde edilen uterin malformasyonların ve uterin patolojilerin TGK'deki önemi net olmamakla birlikte, bu malformasyonlar, konjenital malformasyonların tespiti için kullanılan görüntüleme teknikleriyle teşhis edilebilir. 2D ultrason, uterin yapışıklıkları tespit etmek için duyarlı bir yöntem değildir. Şüphe durumunda, histeroskopi yapılması gerekmektedir. (86) Submukozal miyomlar ve endometrial polipler, 3D ultrason, SHG, 2D ultrason veya HSG ile tespit edilebilir. Hangi tekniğin tercih edilmesi gerektiği konusunda güçlü bir kanıt bulunmamaktadır. Histeroskopi, altın standart olarak kabul edilmektedir. (87) TGK yaşayan tüm kadınların uterin anatomilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Rahmi değerlendirmek için tercih edilen teknik, yüksek sensivite ve spesifiteye sahip olan transvajinal 3D ultrasonografidir. Bu yöntem, septat uterus ile normal serviksi olan bikorporeal uterus (önceden AFS bikornu uterus) arasındaki farkı ayırt edebilir. Müllerian uterin malformasyonu tanısı konulursa, ek araştırmalar (böbrekler ve idrar yolu değerlendirmesi dahil) yapılması düşünülmelidir. TGK'li kadınlarda uterin malformasyonların değerlendirilmesinde MRI, ilk seçenek olarak önerilmez, ancak 3D ultrason mevcut olmadığında kullanılabilir. TGK yaşayan tüm kadınlarda, adenomyozisi dışlamak için 2D ultrason yapılabilir.(85)

TGK yaşayan kadınlarda tiroid taraması (TSH ve TPO antikorları) yapılması önerilmektedir. TGK yaşayan kadınlarda anormal TSH seviyeleri, T4 testi ile takip edilmelidir. PKOS değerlendirmesi, TGK yaşayan kadınlarda bir sonraki gebelik prognozunu iyileştirmek amacıyla önerilmez. Hipoprolaktinemiye (oligo/amenore) dair klinik semptomlar bulunmayan TGK yaşayan kadınlarda prolaktin testi önerilmez. TGK yaşayan kadınlarda luteal faz yetersizliği testi önerilmez.(85)

TGK yaşayan çiftlerde, erkek partnerin yaşam tarzı faktörlerinin (baba yaşı, sigara içme, alkol tüketimi, egzersiz alışkanlıkları ve vücut ağırlığı) değerlendirilmesi

önerilmektedir. TGK yaşayan çiftlerde, tanı amacıyla sperm DNA fragmentasyonu değerlendirilmesi yapılabilir.

TGK yaşayan kadınlarda sitokin polimorfizmleri, HLA ve ANA testi , yapılmamalıdır. TGK yaşayan kadınlarda, periferal kan veya endometrial doku için NK hücre testi yapılmasını önermek için yeterli kanıt bulunmamaktadır. (85)

TGK yaşayan kadınların değerlendirilmesinde, çok sayıda klinik, laboratuvar ve görüntüleme testinin rolü vardır. Ancak, her testin uygulanabilirliği ve faydası, mevcut klinik kanıtlarla sınırlandırılmaktadır. Trombofili, antiphosfolipid sendromu ve uterin malformasyonlar gibi potansiyel nedenler, kapsamlı bir şekilde incelenmeli, ancak gereksiz testlerden kaçınılmalıdır. Kalıtsal trombofili taramasının rutin kullanımı tartışmalıdır, bunun yerine yalnızca ek risk faktörleri olan kadınlarda bu testler yapılmalıdır. Aynı şekilde, prolaktin, luteal faz yetersizliği ve PKOS değerlendirmesi gibi bazı testler, bir sonraki gebelik sonuçlarını iyileştirmeye yönelik fayda sağlamamaktadır. Erkek partnerin yaşam tarzı faktörlerinin de değerlendirilmesi, tedavi sürecinin önemli bir parçasıdır. Sonuç olarak, TGK yönetimi, her hasta için bireyselleştirilmiş bir yaklaşım gerektirmekte olup, bu değerlendirmeler yalnızca klinik göstergelere dayalı olarak yapılmalıdır.

## 2.1.4 Yönetim

Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda prospektif olarak toplanan verilerin meta-analizi, Vücut kitle indeksi (VKİ,BMI) ile gelecekteki gebelik kayıpları arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur. (88) Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda belirli yiyeceklerin, antioksidanların, vitaminlerin, takviyelerin ve diğer faktörlerin beslenme alımını değerlendiren çalışmalar bulunmamaktadır. Özellikle tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan çiftlere yönelik sınırlı veri göz önünde bulundurulduğunda, hamile kalmayı hedefleyen herhangi bir çift için önerilen diyetin benzerinin tavsiye edilmesi makul görünmektedir. (89)

Tekrarlayan gebelik kaybı ve antiphospholipid sendromu (APS) olan kadınlar için aspirin, steroidler, intravenöz immünoglobulin ve heparin ile tedavi edilen gebelik sonuçlarını değerlendiren yüksek kaliteli bir meta-analiz yapıldı. Bu analiz, canlı doğum oranlarında anlamlı bir artışa yol açan tek tedavi veya tedavi kombinasyonunun, aspirin ve fraksiyone edilmemiş heparin (UFH) infüzyonu olduğunu buldu. (90) Ayrıca, 2020 yılında yapılan bir meta-analiz, fraksiyone edilmemiş heparin (UFH) ve düşük moleküler ağırlıklı heparin (LMWH) kombinasyonunun aspirin ile birlikte kullanıldığında canlı doğum oranlarında iyileşmeler olduğunu bildirmiştir. (91) Sonuç olarak Aspirin ve heparin (fraksiyone edilmemiş heparin [UFH] veya düşük moleküler ağırlıklı heparin [LMWH]), APS'li kadınlara önerilebilir. Örneğin, pozitif gebelik testinden itibaren en az 34. haftaya kadar günlük 75 mg aspirin oral olarak ve 40 mg enoksaparin subkütan olarak uygulanabilir. Yeterli veri bulunmama ile birlikte, trombofili riski taşıyan kadınlarda, özellikle venöz tromboemboli riskini azaltmak amacıyla Green-top Kılavuzu No. 37a'ya göre, Faktör V Leiden, protein S eksikliği ve prothrombin G20210GA mutasyonu bulunan kadınlarda tromboprolaksi düşünülebilir. (92)

2023 yılında yayımlanan, 27 çalışmayı ve 1.506 hastayı içeren bir gözlemsel çalışmaların sistematik incelemesi ve meta-analizi, histeroskopik septum

rezeksiyonunun daha yüksek bir canlı doğum oranı ile (RR 1.77, %95 CI 1.26–2.49), düşük oranında bir azalma ile (RR 0.36, %95 CI 0.20–0.66) ve erken doğum oranında bir azalma ile (RR 0.15, %95 CI 0.04–0.53) ilişkili olduğunu göstermiştir. (93) Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlar ve bireylerde kazanılmış uterin anormalliklerin ilişkisi ve tedavisi ile ilgili sınırlı kanıt bulunmaktadır. Kontrol grubu olmayan bir retrospektif analiz, submukozal miyomların rezeksiyonunun potansiyel faydalar sağlayabileceğini göstermektedir.(46) Ancak, yardımcı üreme öncesi histeroskopik miyomektomi uygulanan kadınlarla ilgili Cochrane incelemesinden çıkarılan veriler, beklentisel yönetimle karşılaştırıldığında düşük doğum oranlarında anlamlı bir azalma göstermemiştir (OR 1.54, %95 GA 0.47–5.00; P = 0.47, 94 kadın; çok düşük kaliteli kanıt). (94) Bu nedenle, daha fazla prospektif çalışmaya ihtiyaç duyulduğu açıktır.

Kromozomal yer değiştirmeleri olan çiftlerin birkaç üreme seçeneği bulunmaktadır; bunlar arasında bir sonraki doğal gebeliği denemek, yapısal yer değiştirmeler için pre-implantasyon genetik testi (PGT-SR) içeren yardımcı üreme tedavilerine başvurmak (önceden pre-implantasyon genetik tanı olarak biliniyordu), veya gamet bağışı seçeneği yer almaktadır. RCT olmayan çalışmaların yer aldığı bir sistematik inceleme, doğal gebelik ve PGT-SR grupları arasında canlı doğum oranları, gebe kalma süresi ve hatta düşük oranlarının benzer olduğunu bildirmiştir. (95) Ancak bu konu hakkında yeterli çalışma mevcut değildir.

Subklinik hipotiroidizm bağlamında, Amerikan Tiroid Derneği, daha önce düşük yapmış kadınlar da dahil olmak üzere yüksek risk taşıyan kadınlar için TSH seviyeleri 4 mIU/l'nin üzerinde ve otoimmünite varsa tiroit hormonu (levotiroksin) kullanımını güçlü bir şekilde öneriyor. Otoimmünite ile TSH seviyesi 2.5 mIU/l'nin üzerinde olduğunda tiroit hormonu kullanımı için zayıf bir öneri yapılırken, otoimmünite olmadan TSH seviyesi 4 mIU/l'nin üzerinde olduğunda da tiroit hormonu kullanımı için zayıf bir öneri bulunmaktadır. (96) Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda progesteron tedavisi ile plasebo ya da tedavi uygulanmayan grupları karşılaştıran on randomize kontrollü çalışmanın yer aldığı bir sistematik inceleme ve meta-analiz, düşük riskinde azalma (RR 0.72, %95 CI 0.53–0.97) ve canlı

doğum oranında artış (RR 1.07, %95 CI 1.02–1.15) göstermiştir. Bununla birlikte, preterm doğum (RR 1.09, %95 CI 0.71–1.66), neonatal mortalite (RR 1.80, %95 CI 0.44–7.34) ve fetal genital anomaliler (RR 1.68, %95 CI 0.22–12.62) gibi diğer ikincil sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. (97)

Bir Cochrane sistematik incelemesi ve meta-analizi, açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınlarda, babaya ait hücre immünizasyonu, üçüncü taraf verici lökositleri, trofoblast membranları ve intravenöz immünoglobulin (IVIg) gibi çeşitli immünoterapi türlerinin, daha fazla gebelik kaybını önlemede plaseboya kıyasla anlamlı bir fayda sağlamadığını göstermiştir. (98) İmmun tedaviler rutin olarak TGK’larda önerilmemektedir. Tedavi şekil ve kombinasyonunun her kadın için uygun olmayabileceği ve tedaviye başlamadan önce bireysel değerlendirmelerin yapılması gerektiği unutulmamalıdır.

## 2.2 Lösemi İnhibitör Faktör

Embriyo implantasyonu ve ardından gelen plasentasyon, başlangıçta blastosist trophektoderminin endometrial luminal epiteleye appozisyonu ve adezyonunu içeren bir süreklilik gösterir. (99) Plasenta gelişimi, yerel uterus ortamında üretilen sitokinler gibi birçok faktör tarafından mekansal ve zamansal olarak yüksek derecede düzenlenir. Bu faktörler, nihayetinde gebeliğin başarıyla sonuçlanıp sonuçlanmayacağını belirleyebilir. (100)

Lösemi inhibitör faktörü (LIF), erken gebelik sırasında baskın olarak bulunan sitokinlerden biridir. LIF, interlökin-6 (IL6) ailesine ait bir sitokin olup, gp130/LIF reseptör (LIFR $\alpha$ ) kompleksi aracılığıyla sinyal ileterek, Janus tirozin kinazı (JAK)/sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü (STAT) ve ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK) yollarını içeren hiyerarşik sinyal iletimini aktive eden bir salgılanan glikoproteindir. (101) LIF, hücre diferansiyasyonunu inhibe eden çok işlevli bir sitokindir. Endometrial fonksiyonel tabakada etkisi, siklusun proliferatif fazında azalır, ovülasyondan sonra artar, ortalama sekresyon fazında zirveye ulaşır ve menstrüasyonun başlangıcıyla birlikte düşene kadar menstrüel döngü sonuna kadar oldukça yüksek kalır.(3)

Bu faktör, embriyo implantasyonunda önemli bir rol oynar. Bu sitokin, desidualizasyonu, blastosist büyümesini ve gelişimini, embriyonun endometriyum ile etkileşimlerini, trofoblastın invazyonunu ve immün modülasyonu düzenler.(4) LIF üretimindeki bozukluklar, blastosist implantasyonunu ve trofoblast invazyonunu imkansız hale getirir ve bu nedenle erken gebelik kaybına yol açar.(5)

## 2.2 CD34

CD34, immüoglobulin süper ailesine (IgSF) ait bir yüzey glikofosfoproteinidir. Hematopoetik kök ve öncü hücrelerde, küçük damar endotelial hücrelerinde, embriyonik fibroblastlarda, bağ dokusundaki fibroblast benzeri dendritik hücrelerde ve kornea keratositlerinde eksprese edildiği gösterilmiştir. Araştırmalar, endotelial hücrelerde eksprese edilen CD34'ün lökosit yapışmasında, inflamasyon sürecinde inflamatuvar hücrelerin taşınmasında ve hematopoetik kök hücrelerin L-selektin aracılığıyla hedef dokularına yönlendirilmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. CD34 için bilinen tek ligand olan L-selektin ile gerçekleşen bu ligand-reseptör etkileşimleri, lökositlerin dolaşımdaki kandan yuvarlanarak adezyon yoluyla yakalanmasını, ardından integrin aktivasyonu, güçlü adezyon ve damar duvarını geçerek dokulara göç etmesini sağlar. (102) Lökositlerin damar dışına çıkma süreci, embriyonun uterin duvara tutunma mekanizması ile bazı benzerlikler göstermektedir. Ayrıca, son araştırmalar CD34'ün hücre adezyonunda rol oynadığını göstermektedir. (103)

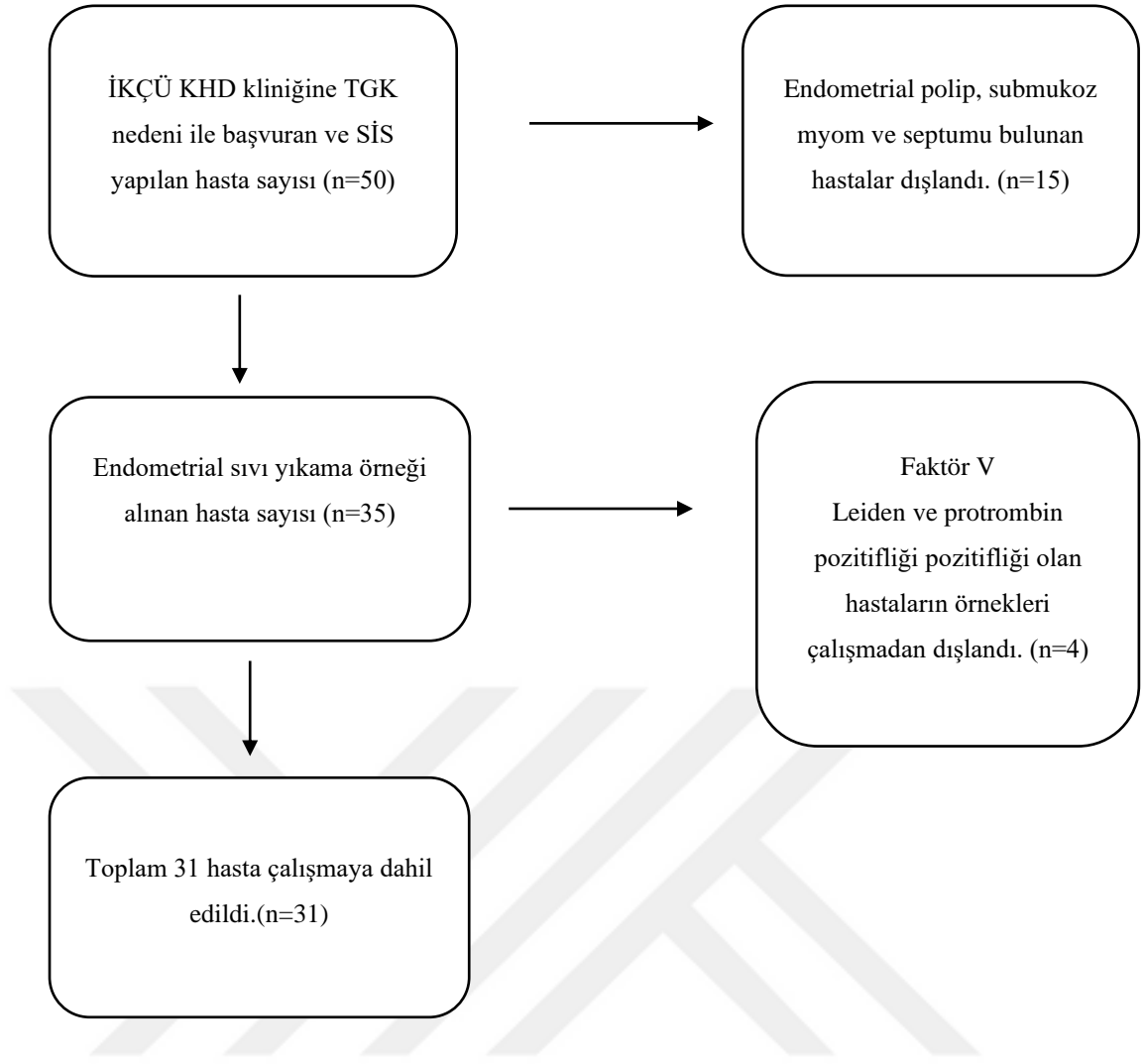
CD34, implantasyon ve plasentasyon süreçlerinde önemli bir rol oynayan, hücre zarına bağlı bir adezyon molekülüdür. Bu protein, hematopoetik kök hücreler ve vasküler endotelial hücre öncüllerinin erken farklılaşma sürecinde önemli bir belirteç olarak kabul edilir. Aynı zamanda, öncü hücrelerin farklılaşmamış durumlarını koruyarak onların kendilerini yenileme ve çoğalma kapasitelerini sürdürmelerine yardımcı olur. CD34'ün bu özellikleri, doku yenilenmesi, anjiyogenez ve embriyonik gelişim süreçlerinde kritik bir fonksiyon üstlenmesini sağlar. Özellikle plasenta oluşumu ve damar gelişiminde etkin rol oynayan bu protein, sağlıklı gebelik süreci açısından da büyük önem taşımaktadır.(6)

Sonuç olarak CD34'ün yalnızca hematopoetik hücre belirteci olmanın ötesinde, hücre adezyonu ve doku yenilenmesi süreçlerinde de önemli bir bileşen olduğunu ortaya koymaktadır. CD34 ve ilişkili hücresel mekanizmaların daha iyi anlaşılması, hematolojik hastalıklar, inflamatuvar bozukluklar ve üreme tıbbı alanlarında yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkı sağlayabilir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız prospektif vaka-kontrol çalışması şeklinde planlandı. İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Girişimsel Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 11/01/2024 tarihli 04 numaralı etik kurul onayı alındı.

Bu prospektif çalışmaya, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Polikliniği'ne başvuran 18 yaş üzerindeki, hiçbir düşük nedeni bulunmayan iki veya daha fazla gebelik kaybı olan 31 kadın hasta grubu olarak; iki veya daha fazla canlı doğum yapmış, gebelik kaybı olmayan 34 kadın ise kontrol grubu olarak alındı. Bir hastayı tekrarlayan gebelik kaybı olarak kabul etmek için 20. gebelik haftasından önce iki veya daha fazla düşük yapmış olma kriteri kabul edildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların değerlendirilmesine anamnez ile başlandı ve gerekli tetkikler istendi. Tetkiklerde herhangi bir patoloji saptanmayan hastalar nedeni bilinmeyen TKG olarak kabul edildi. Hasta grubuna dahil edilecek hastalar, iki veya daha fazla gebelik kaybı yaşamış, 18 yaşından büyük ve konjenital ya da edinsel uterus anomalisi bulunmayan bireylerden oluşturuldu. Kontrol grubu ise, iki veya daha fazla canlı doğum yapmış, 18 yaşından büyük hastalardan oluşturuldu. Bu kriterler, her iki grup arasında belirgin farklılıkların ortaya konabilmesi ve araştırmanın amacına uygun bir şekilde yürütülmesi için belirlenmiştir. ACOG (Amerikan Jinekoloji ve Obstetrik Derneği) tarafından yayımlanan 197 numaralı bültende, TKG yaşayan hastalarda trombofili markerlarının incelenmesi gerektiği vurgulanmıştır. Bu bültende, özellikle Faktör V Leiden ve protrombin pozitifliği gibi trombofili ile ilişkili faktörler, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalar için önemli değerlendirme parametreleri olarak belirtilmiştir. Ancak, bu faktörler pozitif olan 4 hasta, çalışma grubuna dahil edilmemiştir. Bunun nedeni, bu hastalarda trombofili durumunun daha belirgin bir şekilde gebelik kayıplarına yol açması ve tedavi gereksinimlerinin farklılık göstermesidir. Yani, Faktör V Leiden veya protrombin pozitifliği olan hastalar, daha fazla klinik dikkat ve müdahale gerektirdiği için bu grup, araştırma kapsamının dışında bırakılmıştır.



Şekil 3.1 Dahil edilme ve dışlama kriterlerine göre çalışmadaki hasta sayısı

Endometrial polip varlığından şüphelenilen hastaların bilgilendirilmiş onam formunu imzalayan hasta ve kontrol grubuna SİS ardından histereskopi uygulandı. Histeroskopisinde endometrial patoloji(myom, polip, uterin septum) saptanmayan hastaların örnekleri çalışmaya dahil edildi. Polip çıkan 8 subendometrial myom çıkan 6 ve septum çıkan 1 hastanın SİS örnekleri çalışmaya dahil edilmedi. CD34 ve LIF ekspresyon seviyelerinin menstrüel siklusun günlerine göre değişiklik göstermesi nedeniyle hastaların homojenizasyonu açısından hem çalışma hem de hasta grubunda işlem zamanlaması geç luteal faz yani siklusun 19-24. günleri arasında belirlendi. Bu işlem uygulandığı sırada uterin yıkama sıvısı örneği alındı. Prosedür, vajinaya steril bir spekulum yerleştirilerek servikal os görünür hale getirildi ve ardından inseminasyon kateteri uterin lumen'e yerleştirildi. Kateter, 10 mL'lik bir şırıngaya

bağlandı ve içine 3,5 mL steril normal salin çözeltisi eklendi. Salin çözeltisi yavaşça uterin boşluğa enjekte edildi ve ardından aspirasyon yapıldı. Bu işlem, örneğin sıvı içinde homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak için beş kez tekrarlandı ve türbülanslı bir akış elde edildi. Yıkama sıvıları steril tüplerde saklandı. Tüm steril tüpler -40 derecede güvenli koşullar ile saklandı. Toplanan tüm örnekler ve kitler oda ısına getirildikten sonra aynı anda çalışıldı. Araştırmada Human LIF ELİSA kiti Sunred (Human LIF catalog no:201-12-1112, China) ve Human CD34 ELİSA kiti Sunred (Human CD34, catalog no:201-12-0220, China) kullanılmıştır. Araştırmada kullanılacak ELISA kitleri, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi BAP (Bilimsel Araştırma Projeleri) kapsamında temin edilmiştir. Alınan örnekler CD34 ve LIF için ayrı olarak aynı metodolojik yöntem ile çalışılmıştır.

1- 40µl örnek eklendi, ardından 10µl LIF-antikör ve 50µl Streptavidin-HRP ilave edildi. Daha sonra sızdırmazlık membranı kapatıldı, hafifçe çalkalandı ve 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.

2- 30X yıkama konsantresi, distile su ile 30 kat seyreltilerek hazırlandı.

3- Membran dikkatlice çıkarıldı, sıvı boşaltıldı ve kalan su çalkalanarak uzaklaştırıldı.

4- Her kuyucuğa 50µl Kromojen çözeltisi A ve ardından 50µl Kromojen çözeltisi B eklendi. Nazikçe karıştırılarak 37°C’de 10 dakika ışık almadan inkübe edildi.

5- Her kuyucuğa 50µl Durdurma Çözeltisi eklenerek reaksiyon durduruldu. (Mavi renk anında sarıya döndü).Boş kuyu sıfır referans noktası olarak kabul edildi. 450 nm dalga boyunda optik yoğunluk ölçümü yapıldı. Ölçüm, durdurma çözeltisi eklendikten sonraki 15 dakika içinde tamamlandı.

6- Standartların konsantrasyonları ve OD değerleri kullanılarak standart eğri oluşturuldu. Örneklerin OD değerleri regresyon denklemi kullanılarak konsantrasyon hesaplamasında kullanıldı. Hesaplamalar için uygun yazılımlar kullanıldı.

Standart reaksiyon eğrisi ve denklemi kullanılarak, absorbansı ölçülen tüm hasta ve kontrol grubu çalışma numunelerinin ölçülen absorbanslarına göre

konsantrasyonları hesaplanmıştır. LIF için sonuçlar pikogram/mL, CD34 için sonuçlar nanogram/mL olarak ifade edilerek veri analizinde kullanılmıştır.



# 4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE BULGULAR

## 4.1 İstatistiksel Analiz

Veriler Statistical Package for the Social Sciences (IBM® SPSS Statistics for Windows, Version 23.0, Armonk, NY, USA) yazılım paketine girildi. Tanımlayıcı istatistikler kullanıldı ve nicel değişkenler ortalama, maksimum (maks) ve minimum (min) değerleri kullanılarak karakterize edilmiş ve nitel değişkenler için yüzdeler kullanılmıştır. Dağılımların normal olup olmadığına Kolmogorov-Smirnov analizi ile karar verildi. Normal dağılımlar ortalama değerler olarak rapor edildi, standart sapmaları (SS) hesaplandı ve gruplar arası karşılaştırmalar için Student t-testi kullanıldı. Parametrik olmayan sürekli değişkenler medyan olarak kaydedildi ve Mann-Whitney U testleri kullanılarak karşılaştırıldı. Medyan olarak kaydedilen değerlerde aynı zamanda Inter Quantile Range (çeyrekler arası aralık-IQR) sonucu da verildi. Nitel değişkenlerin karşılaştırma analizi için Pearson'ın ki-kare testi kullanıldı; ancak, örnek boyutu küçükse ( $\leq 5$  ise) Fisher'ın exact testi kullanıldı. p değeri  $<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Ayrı ayrı LIF ve de CD34 için tekrarlayan gebelik kaybının (TGK) öngörücülüğü açısından Receiver operating characteristic (ROC) eğrileri çizildi ve eğrilerin altında kalan alanlar (area under curve; AUC) hesaplandı. Aynı zamanda her AUC değeri için %95 güven aralığı (95% Confidence Interval) belirlendi. Bu çalışmada genel olarak, 0,599 veya altında bir AUC değerinin, öngörücülük yeteneğinin (yani, testlere dayalı olarak TGK'yı öngörme yeteneği) olmadığını gösterdiği kabul edildi. AUC değeri 0,6 ile 0,7 arasında ise vasat, 0,7 ile 0,8 arası ise kabul edilebilir, 0,8 ile 0,9 arası ise mükemmel, 0,9'dan fazla ise muhteşem öngörücülük yeteneği olduğu kabul edildi.

Hastalarda LIF ve de CD34 için TGK öngörücülüğü açısından ayrı ayrı “optimal” kesim noktaları (eşik değerler-cut-offlar), ROC analizi kullanılarak hesaplanan en iyi sensitivite ve spesifite yüzdeleri bulunarak belirlendi. Bu eşik değerler için eşik değerin üzerinde ve de altında kalanlarda TGK durumu açısından şekiller oluşturuldu. Ayrıca bu değerlere özgü negatif öngörücülük değeri (NÖD) ve pozitif öngörücülük değeri (PÖD) hesaplandı.

Ardından hastalar bu eşik değerlerin üstünde ve altında kalanlar olmak üzere gruplandırıldı. Bu gruplarda TGK gelişme oranları hesaplandı ve eşik değerin altında ve üstünde kalanlarda TGK gelişme olasılık oranları (Odds ratio) ve de %95 güven aralığı hesaplandı.

Tüm çalışma için p değeri  $<0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4.2 Bulgular

Tüm hastaların demografik ve karakteristik özellikleri Tablo 4.1’de verilmiştir. Yaşları medyan 40 olan hastaların Vücut kitle indeksleri (BMI) ortalama  $27,9\pm 4,5$  ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) olarak hesaplandı. Hastaların %41,5’inde ( $n=27$ ) ameliyat öyküsü vardı. Çalışmaya alınan hastaların 31’inde (%47,7) TGK öyküsü varken (Çalışma grubu) 34’ünde (%52,3) yoktu (Kontrol grubu). TGK öyküsü olan hastaların ( $n=31$ ) onbirinde iki gebelik kaybı, dokuzunda üç gebelik kaybı, yedisinde dört gebelik kaybı, üçünde beş gebelik kaybı ve birinde altı gebelik kaybı vardı. Bunlar arasında 13’ü (%41,9) primer TGK iken 18’i (%58,1) sekonder TGK idi.

**Tablo 4.1.** Tüm hastaların demografik ve karakteristik özellikleri

Değişkenler	Veri (n=65)
Yaş, yıl, ortanca (IQR)	40 (8)
BMI, $\text{kg}/\text{m}^2$ ortalama $\pm$ SS	$27,9\pm 4,5$
Gravida, n, ortanca (IQR)	3 (2)
Parite, n, ortanca (IQR)	2 (1)
C/S, n, ortanca (IQR)	2 (1)
NSD, n, ortanca (IQR)	2 (2)
Ek hastalık varlığı, n / %	9 / 13,8
Ameliyat öyküsü, n / %	27 / 41,5

<b>Grup, n / %</b>	
<b>Çalışma</b>	31 / 47,7
<b>Kontrol</b>	34 / 52,3

n; sayı, SS; standart sapma, IQR; çeyrekler arası fark, BMI; vücut kitle indeksi, NSD: normal spontan doğum, C/S: sezaryen

Çalışma ve kontrol grubunun demografik ve karakteristik özellikler açısından karşılaştırılması Tablo 4.2’de verilmiştir. İki grup arasında BMI ( $p=0,635$ ), C/S ( $n=0,353$ ), ek hastalık varlığı ( $p=1,000$ ) ve ameliyat öyküsü açısından ( $p=0,147$ ) istatistiksel fark saptanmadı. Çalışma ve kontrol grubun arasında NSD sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlılığa yakın ( $p=0,06$ ) fark mevcut iken yaş ( $p=0,001$ ), gravida sayısı ( $p<0,001$ ) ve parite sayısı ( $p<0,001$ ) açısından ise istatistiksel fark vardı. Kontrol grubundaki hastaların çalışma grubundakilere göre istatistiksel olarak yaşlarının daha yüksek olduğu görüldü. NSD sayısı kontrol grubunda çalışma grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılığa yakın düzeyde yüksek idi. Gravida sayısı çalışma grubunda istatistiksel olarak daha yüksek iken parite sayısı kontrol grubunda istatistiksel olarak daha yüksekti.

**Tablo 4.2.** İki grubun demografik ve karakteristik özellikler açısından karşılaştırılması

Değişkenler	Çalışma Grubu (n=31)	Kontrol grubu (n=34)	P değeri
Yaş, yıl, ortanca (IQR)	36 (8)	41 (5)	<b>0,001</b>
BMI, kg/m <sup>2</sup> ortalama±SS	28,2±4,8	27,7±4,3	0,635
Gravida, n, ortanca (IQR)	4 (2)	2 (1)	<b>&lt;0,001</b>
Parite, n, ortanca (IQR)	1 (1)	2 (1)	<b>&lt;0,001</b>
C/S, n, ortanca (IQR)	1 (1)	2 (1)	0,353
NSD, n, ortanca (IQR)	1 (1)	2 (2)	0,06
Ek hastalık varlığı, n / %	4 / 12,9	5 / 14,7	1,000
Ameliyat öyküsü, n / %	10 / 32,3	17 / 50,0	0,147

Koyu renkli p değeri istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. İtalik olan p değeri istatistiksel olarak anlamlılığa yakın farkı göstermektedir. n; sayı, SS; standart sapma, IQR; çeyrekler arası fark, BMI; vücut kitle indeksi, NSD: normal spontan doğum, C/S: sezaryen

Çalışma ve kontrol grubunun bazı kan biyokimyasal parametreleri açısından karşılaştırılması Tablo 4.3’de verilmiştir. İki grup arasında TSH (p=0,641), AntiTpo (p=0,248), T3 (p=0,442), T4 (p=0,854), açlık kan şekeri (p=0,813) açısından

istatistiksel fark saptanmazken Beyaz kan hücreleri (WBC) ( $p=0,09$ ) ve de trombosit (PLT) ( $p=0,07$ ) açısından ise istatistiksel olarak anlamlılığa yakın fark saptandı. WBC ve PLT istatistiksel olarak anlamlılığa yakın düzeyde çalışma grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek idi.

**Tablo 4.3.** İki grubun bazı kan biyokimyasal parametreleri açısından karşılaştırılması

Değişkenler	Çalışma Grubu (n=31)	Kontrol grubu (n=34)	P değeri
<b>TSH, mIU/L, ortanca (IQR)</b>	1,82 (0,62)	1,56 (1,67)	0,641
<b>AntiTpo, IU/mL, ortanca (IQR)</b>	1,0 (0,0)	1,0 (2,0)	0,248
<b>T3, pmol/L, ortanca (IQR)</b>	3,45 (0,26)	3,34 (0,41)	0,442
<b>T4, ng/dl, ortanca (IQR)</b>	0,79 (0,13)	0,80 (0,16)	0,854
<b>AKŞ, mg/dl, ortanca (IQR)</b>	88,0 (13,0)	88,0 (21,0)	0,813
<b>WBC, cells/mm<sup>3</sup> ortanca (IQR)</b>	7470 (3080)	6845 (2245)	0,09
<b>PLT, cells/<math>\mu</math>L, 10<sup>3</sup>, ortalama<math>\pm</math>SS</b>	268,2 $\pm$ 112,0	230,6 $\pm$ 143,2	0,07

İtalik olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlılığa yakın farkı göstermektedir. SS; standart sapma, IQR; çeyrekler arası fark, AKŞ; açlık kan şekeri, PLT; trombosit, WBC: beyaz kan hücreleri, TSH; Tiroid Stimüle Edici Hormon, AntiTpo;Anti Tiroid Peroksidaz

Çalışma ve kontrol grubunun LIF ve CD34 açısından karşılaştırılması Tablo 4.4’de verilmiştir. Çalışma grubundaki hastalardan alınan LIF kontrol grubundakilerden alınanlara göre istatistiksel olarak daha düşük olarak saptandı (sırasıyla, medyan 6,3 pg/ml’ye karşılık 7,7 pg/ml,  $p<0,001$ ). Çalışma grubundaki hastalardan alınan CD34, kontrol grubundakilerden alınanlara göre daha yüksek idi (sırasıyla, medyan 13,2 ng/ml’ye karşılık 12,2 ng/ml), ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak farklı değildi ( $p=0,237$ ).

**Tablo 4.4.** İki grubun LIF ve CD34 açısından karşılaştırılması

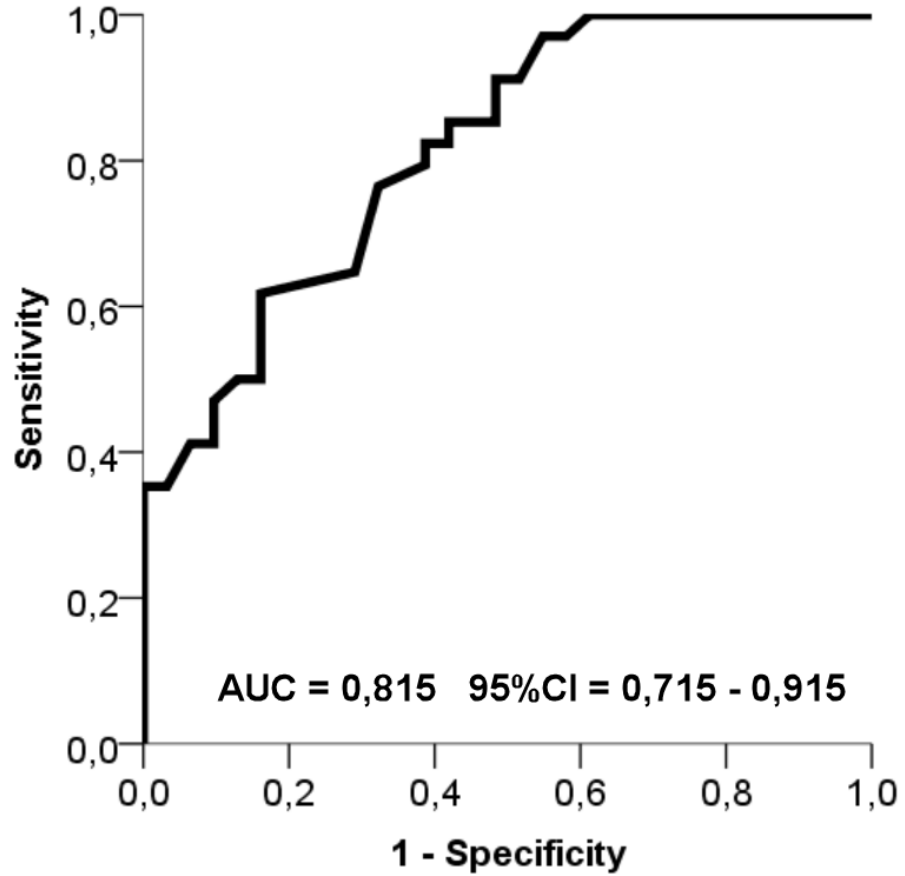
<b>Değişkenler</b>	<b>Çalışma Grubu (n=31)</b>	<b>Kontrol grubu (n=34)</b>	<b>P değeri</b>
<b>LIF, pg/ml, ortanca (IQR)</b>	6,3 (4,4)	7,7 (4,4)	<b>&lt;0,001</b>
<b>CD34, ng/ml, ortanca (IQR)</b>	13,2 (5,1)	12,2 (6,6)	0,237

Koyu renkli p değeri istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. IQR; çeyrekler arası fark, LIF: lösemi inhibitör faktör

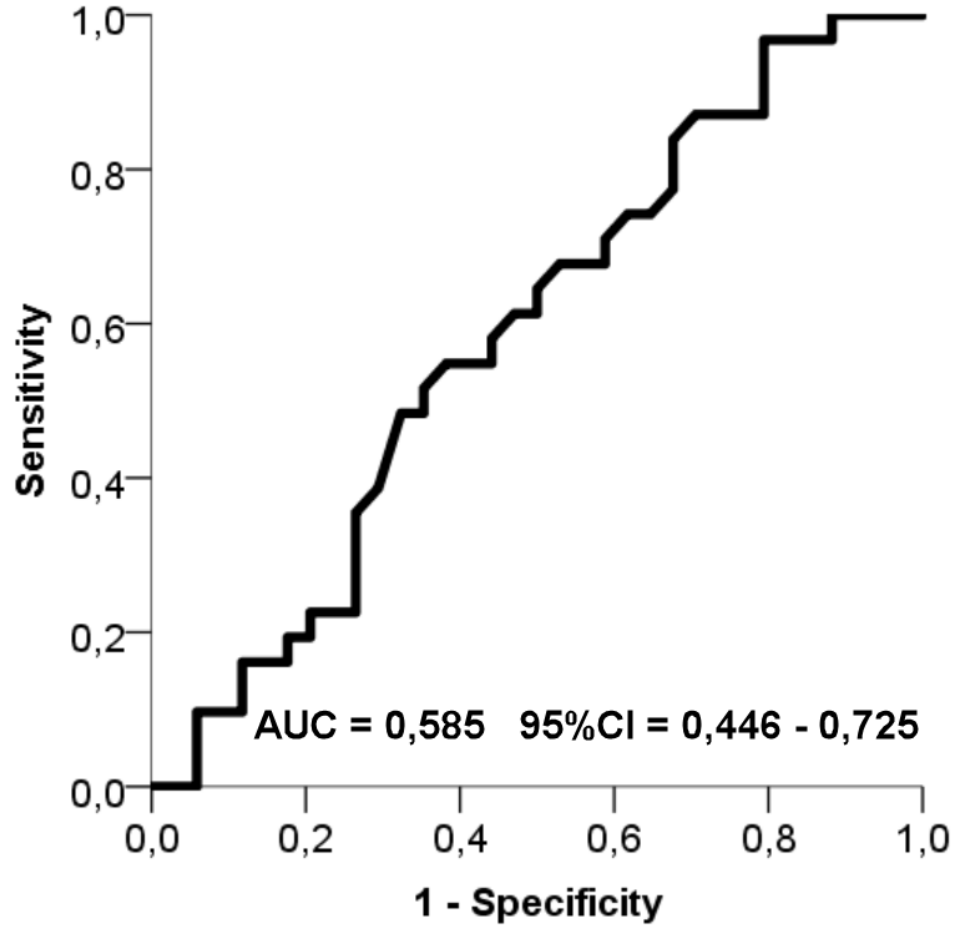
LIF ve CD34’ün TGK açısından öngörücülüğünün incelenmesi Tablo 4.5’de gösterilmiştir. Bu iki değişken arasında en iyi AUC değerine sahip olanın LIF olduğu ve bu değer TGK’yı öngörme yeteneğinin mükemmel olduğu görüldü (AUC=0,815, 95%CI: 0,715 – 0,915). CD34’ün ise TGK’yı öngörme yeteneğinin olmadığı görüldü (AUC=0,585, 95%CI=0,446 – 0,725).

LIF ve CD34'ün TGK açısından öngörücülüğünün incelenmesi için oluşturulan ROC eğrileri Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.

**Şekil 4.1.** LIF'in tekrarlayan gebelik kaybını öngörücülüğü için çizilen ROC eğrisi.  
LIF; lösemi inhibitör faktör AUC; eğrinin altında kalan alan, CI; güven aralığı



**Şekil 4.2.** CD34'ün tekrarlayan gebelik kaybını öngörücülüğü için çizilen ROC eğrisi.  
LIF;lösemi inhibitor faktör , AUC; eğrinin altında kalan alan, CI; güven aralığı



LIF ve CD34'ün TGK'yi öngörme açısından en iyi sensitivite ve en iyi spesifiteye sahip seviyeler eşik değerler olarak kabul edildi (Tablo 5 ve Şekil 3 ve Şekil 4).

**Tablo 4.5.** LIF ve CD34'ün tekrarlayan gebelik kaybı açısından öngörücülüğünün incelenmesi

Test	AUC	95% CI	Eşik değer	p değeri	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PÖD (%)	NÖD (%)
<b>LIF, pg/ml</b>	0,815	0,715 – 0,915	≤7,5	<b>&lt;0,001</b>	83,8	61,7	66,7	80,8
<b>CD34, ng/ml</b>	0,585	0,446 – 0,725	>9,5	0,232	96,7	20,5	52,6	87,5

AUC; area under curve, CI; güven aralığı, BMI; vücut kitle indeksi. NÖD; negatif öngörücülük değeri, PÖD; pozitif öngörücülük değeri. Koyu renkli yazılan p değeri istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. LIF: lösemi inhibitör faktör



Belirlen eşik değerlere göre hastaların gruplanması ve bu eşik puanlarına göre düşük ve yüksek değere sahip olan hastalar arasında TGK uygulanma oranlarının karşılaştırılması Tablo 4.6’da verilmiştir.

**Tablo 4.6.** LIF ve CD34 için belirlen eşik değerlere göre hastaların gruplanması ve bu eşik puanlarına göre düşük ve yüksek değere sahip olan hastalar arasında tekrarlayan

Test tipi	Cutoff	Toplam (n=65)	TGK var (n=31)	TGK yok (n=34)	P değeri	OR	95%CI
LIF, pg/ml	>7,5	26	5/16,1%	21/ 61,8%	<b>&lt;0,001</b>	8,400	2,579 – 27,361
	≤7,5	39	26/ 83,9%	13/ 38,2%			
CD34, ng/ml	≤9,5	8	1 / 3,2%	7 / 20,6%	<b>0,03</b>	7,778	0,898 – 67,364
	>9,5	57	30/ 96,8%	27/ 79,4%			

gebelik kaybı oranlarının karşılaştırılması

OR; odds ratio, olasılık oranı, CI; güven aralığı, Koyu olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. IQR; çeyrekler arası aralık, n; sayı, LIF: lösemi inhibitör faktör

Düşük LIF’e (yani 7,5 pg/ml ve 7,5 pg/ml’den az) sahip olan hastalar (n=39) ile yüksek LIF’e (yani 7,5 pg/ml’den yüksek) sahip olan hastalar (n=26) karşılaştırıldığında düşük LIF’e sahip hastalar arasında TGK oranı %66,6 (n=26) iken yüksek LIF’e sahip hastalarda bu oran %19,2 (n=5) idi ve aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,001) (Şekil 3). Düşük LIF’e (yani 7,5 pg/ml ve 7,5 pg/ml’den az) sahip olan hastalarda TGK olasılık oranı yüksek LIF’e (yani 7,5 pg/ml’den yüksek) sahip olan hastalara göre 8,4 kat fazlaydı (Odds ratio=8,400, 95%CI=2,579 – 27,361).

Düşük CD34'e (yani 9,5 ng/ml ve 9,5 ng/ml'den az) sahip olan hastalar (n=8) ile yüksek CD34'e (yani 9,5 ng/ml'dan yüksek) sahip olan hastalar (n=57) karşılaştırıldığında düşük CD34'e sahip hastalar arasında TGK oranı %12,5 (n=1) iken yüksek CD34'e sahip hastalarda bu oran %52,6 (n=30) idi ve aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,03) (Şekil 4). Yüksek CD34'e (yani 9,5 ng/ml'dan yüksek) sahip olan hastalarda TGK olasılık oranı düşük CD34'e (yani 9,5 ng/ml ve 9,5 ng/ml'den az) sahip olan hastalara göre 7,7 kat fazlaydı (Odds ratio=7,778, 95% CI=0,898 – 67,364).

Primer TGK ile Sekonder TGK'nin LIF ve CD34 açısından karşılaştırılması Tablo 4.7'de verilmiştir. Primer TGK'lilerde CD34 düzeyi sekonder TGK'lilere göre istatistiksel olarak daha yüksek idi (p=0,04). Sekonder TGK'lilerdeki LIF düzeyi primer TGK'lilerdekine göre istatistiksel olarak anlamlılığa yakın düzeyde daha yüksek olarak saptandı (p=0,07).

**Tablo 4.7.** Primer TGK ile Sekonder TGK'nin LIF ve CD34 açısından karşılaştırılması

Değişkenler	Primer (n=31)	Sekonder (n=34)	P değeri
LIF, pg/ml, ortalama±SS	4,75±2,33	6,33±2,38	0,07
CD34, ng/ml, ortalama±SS	16,00±4,44	12,97±3,76	<b>0,04</b>

Koyu renkli p değeri istatistiksel olarak anlamlılığı göstermektedir. İtalik p değeri istatistiksel olarak anlamlılığa yakınlığı göstermektedir SS; standart sapma, LIF: Lösemi inhibitör faktör

## 5-TARTIŞMA

Tekrarlayan gebelik kaybına birçok farklı etkenin sebep olabileceği düşünülmektedir. Ancak vakaların yarısından fazlasında altta yatan neden kesin olarak belirlenememektedir (96). Etiyolojisi saptanamayan bu hasta grubunda tanı ve tedavi süreçleri yoğun bir şekilde sürdürülse de, spesifik bir neden bulunamadığı için çoğu hastada başarılı sonuçlar elde edilememektedir. Kadınların yaklaşık %3'ünde görülen TGK, teşhis ve tedavi sürecinin yüksek maliyetleri nedeniyle sağlık sistemine ciddi bir ekonomik yük getirmektedir.

TGK hastalarının büyük bir bölümünde etiyojinin belirlenememesi, sağlık harcamalarının artmasına ve hastaların psikolojisi üzerinde olumsuz etkiler yaratmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, konunun daha iyi anlaşılabilmesi için döllenme ve implantasyon süreçlerinde birçok faktörün rol oynayabileceği öne sürülmekte, bu basamaklarla ilgili literatürde çok sayıda çalışma gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada, etiyojisi henüz kesinleşmemiş faktörler arasında yer alabilecek endometriyal implantasyon bozukluklarını ve implantasyonda rol oynayan LIF sitokini ile CD34 anjiyogenez faktörünü intrauterin yıkama sıvısı üzerinden inceledik.

LIF, insan üremesinde başarılı bir embriyo implantasyonu için önemli bir sitokindir. Bu rol, fare uterusunda embriyo implantasyonu sırasında kısmi ve geçici olarak farklılık göstermiştir. Ayrıca, LIF esas olarak uterin epitelde lokalize olmuş ve embriyonun epitele tutunmasını etkileyen önemli bir faktör olmuştur. (104) Ancak, LIF'in uterus reseptivitesi üzerindeki rolüne dair çelişkili kanıtlar mevcuttur. Bazı çalışmalar, primer açıklanamayan infertilite tanısı almış kadınlardan elde edilen endometrial örneklerde, fertil kadınlara kıyasla uterin yıkama sıvısında daha düşük LIF seviyeleri ve endometrial örneklerde daha düşük LIF immünoreaktivitesinin mevcut olduğunu bildirmektedir. Ayrıca, infertil kadınlardan alınan endometrial dokularında, implantasyon penceresi sırasında daha düşük LIF salgılanması da gözlemlenmiştir.(105,106)

Çalışmaların bir diğer önemli bulgusu, implantasyon penceresi sırasında kadınların uterin yıkama sıvısında LIF'in tespit edilmesidir. Bu sonuç, LIF'in insan uterus lümenine salgılandığını düşündürmektedir. (107) LIF'in uterus reseptivitesindeki rolüyle ilgili çelişkili kanıtlar bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, fertil kadınlar ile karşılaştırıldığında primer açıklanamayan infertilitesi olan kadınların uterin yıkama sıvısında daha düşük LIF seviyeleri ve endometrial örneklerinde daha düşük LIF immünoreaktivitesi olduğunu bildirmekte ve infertil kadınlardan alınan endometrial doku örneklerinde, implantasyon penceresi sırasında daha düşük LIF salgılandığını gösterilmiştir.(105) Mikołajczyk ve arkadaşları, implantasyon penceresi sırasında infertil kadınların uterin yıkama sıvısındaki LIF seviyelerinin sağlıklı kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu ve bu eksikliğin özellikle idiopatik infertilitesi olan kadınlarda daha belirgin olduğunu bulmuştur. (108) Buna karşılık, diğer bazı çalışmalar, infertil kadınlardan elde edilen endometrial biyopsi örneklerinde LIF mRNA ekspresyonu veya LIF salgılanmasında fertil kontrollerle karşılaştırıldığında bir değişiklik olmadığını bildirmiştir.(109,110) Çoğu çalışmaya benzer şekilde, bizim çalışmamızda da tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) yaşayan hastaların LIF düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ( $p<0,001$ ). Bu bulgu, LIF'in yalnızca embriyo implantasyonu için değil, gebeliğin devamlılığı açısından da kritik bir rol oynayabileceğini desteklemektedir.

Membranöz protein CD34, etkili implantasyon ve plasentasyon için hayati öneme sahip bir adezyon molekülüdür. Bu protein, hematopoetik hücrelerin ve vasküler endotelyosit öncüllerinin erken farklılaşmasının bir belirteçidir ve öncül hücrelerin farklılaşmamış durumlarının korunmasında rol oynadığı bilinmektedir.(6) Popravka ve arkadaşları 40 etiyojisi bilinmeyen spontan gebelik kaybı olan kadından endometriyum biyopsisi alarak CD34 düzeyini incelemiştir. Bulunan sonuçlarda etiyojisi belirsiz spontan düşükleri olan genç kadınların endometriyumunda CD34 ekspresyonu, ileri üreme yaşındaki kadınlara kıyasla 1,59 kat, gebelik dokusu iltihabı olan hastalarda ise 1,31 kat daha yüksek bulunmuştur. (111) CD34 anjiyogenez faktörü ile endometrial implantasyonu veya tekrarlayan gebelik kayıpları arasındaki ilişkiyi araştıran yayınların sayısı oldukça azdır. Bizim çalışma grubumuzdaki hastalardan alınan CD34, kontrol grubundakilerden alınanlara göre daha yüksek idi (sırasıyla,

medyan 13,2 ng/ml'ye karşılık 12,2 ng/ml), ancak aradaki bu fark istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. ( $p=0,237$ ) Bu durumun çalışma ve kontrol grubunun sayısal yetersizliğinden kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. Ancak hastalarda TGK öngörücülüğü açısından ayrı ayrı eşik değerleri ROC analizi kullanılarak hesaplandığında düşük CD34'e (yani 9,5 ng/ml ve 9,5 ng/ml'den az) sahip olan hastalar ( $n=8$ ) ile yüksek CD34'e (yani 9,5 ng/ml'dan yüksek) sahip olan hastalar ( $n=57$ ) karşılaştırıldığında düşük CD34'e sahip hastalar arasında TGK oranı %12,5 ( $n=1$ ) iken yüksek CD34'e sahip hastalarda bu oran %52,6 ( $n=30$ ) idi ve aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p=0,03$ ) (Şekil 4). Yüksek CD34'e (yani 9,5 ng/ml'dan yüksek) sahip olan hastalarda TGK olasılık oranı düşük CD34'e (yani 9,5 ng/ml ve 9,5 ng/ml'den az) sahip olan hastalara göre 7,7 kat fazlaydı (Odds ratio=7,778, 95%CI=0,898 – 67,364).

Bizim çalışmamız yapılan bu çalışmadan farklı olarak tekrarlayan gebelik kaybı öykülü kadınlarda vaka-control çalışması olarak düzenlenmiştir. Aynı zamanda yapılan örneklemeler endometrial biyopsi olarak değil uterin yıkama sıvısı olarak alınmıştır. Örneklem farklılığı açısından sonuçlar değişiklik gösterebilmekte ancak rutinde yapılan SIS işlemi sonrasında bu sıvı örnekleme kullanılarak yapılan çalışmanın tarafımızca hasta açısından daha kolay, daha az maliyetli olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. İlk olarak, örneklem büyüklüğümüz nispeten küçüktür (31 tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) hastası ve 34 sağlıklı kontrol). Daha büyük bir örnekleme yapılan çalışmalar, LIF ve CD34 ekspresyonu ile TGK arasındaki ilişkiyi daha güvenilir bir şekilde değerlendirmeye olanak sağlayabilir.

İkinci olarak, çalışma grubunun yaş ortalaması 36 iken, kontrol grubunun yaş ortalaması 41'dir. Yaşın endometrial reseptivite ve anjiyogenez üzerinde etkili olduğu göz önüne alındığında, bu farklılık sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Daha homojen yaş gruplarıyla yapılan ek çalışmalar, LIF ve CD34 düzeylerindeki değişikliklerin yaş faktöründen bağımsız olarak TGK ile ilişkisini daha net ortaya koyabilir.

Üçüncü olarak, hem çalışma hem de kontrol grubunda BMI ortalaması 27 olarak bulunmuştur. BMI'nin endometrial fonksiyon, inflamasyon ve implantasyon sürecine etkileri göz önüne alındığında, bu parametre LIF ve CD34 ekspresyon seviyelerini dolaylı olarak etkilemiş olabilir. BMI'nin daha geniş bir aralıkta değerlendirildiği ve farklı BMI gruplarının dahil edildiği çalışmalar, bu değişkenin TGK ile ilişkisini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir.

Bunun yanı sıra, çalışmamız tek merkezli olup, farklı merkezlerden elde edilen daha geniş kapsamlı veriler ile sonuçların genellenebilirliği artırılabilir. Ayrıca, LIF ve CD34 ekspresyonunu etkileyebilecek diğer faktörler (hormonal durum, genetik yatkınlık, çevresel etkenler) kapsamlı bir şekilde değerlendirilmemiştir. Bu değişkenlerin dikkate alındığı ileri çalışmalar, LIF ve CD34'ün TGK patofizyolojisindeki rolünü daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir.

## 6-SONUÇ

Bu çalışma, TGK olan kadınlarda LIF ve CD34 seviyelerini değerlendirerek, bu biyobelirteçlerin TGK patofizyolojisindeki rolünü araştırmıştır. Bulgularımız, TGK hastalarında LIF seviyelerinin sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğunu göstermektedir ( $p<0,001$ ). LIF, embriyo implantasyonu ve endometrial reseptivite için kritik bir sitokin olup, düşük seviyeleri uterusun embriyoyu kabul etme yetisini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu durum, LIF eksikliğinin TGK gelişiminde önemli bir faktör olabileceğini düşündürmektedir.

Öte yandan, CD34 seviyeleri TGK grubunda kontrol grubuna kıyasla hafif yüksek bulunmuştur (medyan 13,2 ng/ml'ye karşılık 12,2 ng/ml), ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamasının ( $p=0,237$ ) yanı sıra CD34'ü yüksek olan hastalarda CD34'ü düşük olan hastalarla kıyaslandığında TGK kaybı görülme oranının CD34'ü yüksek olan hastalarda daha yüksek olduğu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ( $p=0,03$ ) CD34, endometrial vaskülarizasyonun bir belirteci olup implantasyon sürecinde önemli bir rol oynayabilir. Çalışmamız sonucunda TGK'da, anjiyogenezisi artırmaya yönelik immünolojik yanıtın güçlenmesi amacıyla CD34 düzeylerinin yüksek gözlemlenebileceği düşünülmüştür. Ancak TGK etiolojisinde endometrial anjiyogenezin etkisini anlamak için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bununla birlikte, çalışmamızdaki hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları (sırasıyla 36 ve 41) ve BMI değerleri (ortalama 27) dikkate alındığında, bu faktörlerin de endometrial mikroçevre ve implantasyon süreci üzerinde etkili olabileceği göz ardı edilmemelidir. Yaşın ve vücut kitle indeksinin LIF ve CD34 seviyeleri üzerindeki potansiyel etkilerini daha iyi anlamak için daha geniş örneklerle ve yaş ile BMI açısından daha homojen gruplarla yapılacak ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, bu çalışma, TGK hastalarında LIF seviyelerinin belirgin şekilde düşük olduğunu ve bunun uterus reseptivitesi ile implantasyon sürecini olumsuz etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. LIF ve CD34'ün TGK etiolojisindeki

potansiyel rolünü daha iyi anlamak ve klinik uygulamalara yönelik olası hedefler belirlemek için, daha büyük ölçekli, çok merkezli ve prospektif çalışmalar gerekmektedir.



# 7-KAYNAKÇA

1. <https://www.eshre.eu/guidelines>, European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Guideline on Recurrent Pregnancy Loss. 2022.
2. Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ*. 2000;320(7251):1708–12.
3. Dimitriadis E, Menkhorst E, Salamonsen LA, Paiva P. LIF and IL11 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy. *Placenta*. 2010 ve 31(Suppl):S99-S104.
4. Salleh N, Giribabu N. Leukemia inhibitory factor: roles in embryo implantation and in nonhormonal contraception. *Scientific World J*. 2014 ve 10.1155/2014/201514., 2014.
5. Dimitriadis E, Nie G, Hannan NJ, Paiva P, Salamonsen LA. Local regulation of implantation at the human fetal-maternal interface. *Int. J. Dev. Biol*. 2010 ve 54(2-3):313-322.
6. Chernykh ER. Bone marrow hematopoietic progenitor cells in women with physiological pregnancy and pregnancy complications. *Mezhdunarodn. Zh. Prikladn. Fundamental. Issled. ve Russian*, (4-2):216-221.
7. Nielsen JS, McNagny KM. Novel functions of the CD34 family. *J. Cell Sci*. 2008 ve 22):3683-3692., 121.
8. El-Sherbiny W, El-Mazny A, Abou-Salem N, Mostafa WS. The diagnostic accuracy of two- vs three-dimensional sonohysterography for evaluation of the uterine cavity in the reproductive age. *J Minim Invasive Gynecol*. 2015 Jan ve 22(1):127-31.
9. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020 ve 113(3):533–5.
10. ASRM. Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2020 ve 98(5):1103–11.
11. Bender Atik R, Christiansen OB, Elson J, Kolte AM, Lewis S, Middeldorp S, 2018, ESHRE Guideline Group on RPL. *Hum Reprod Open*. ve 2018(2):hoy004.
12. Greenwold N, Jauniaux E. Collection of villous tissue under ultra- sound guidance to improve the cytogenetic study of early pregnancy failure. *Hum Reprod*. 2002 ve 17(2):452–6.
13. Saravelos SH, Li TC. Unexplained recurrent miscarriage: how can we explain it? *Hum Reprod*. 2012 ve 27(7):1882–6.
14. Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol* 2009 ve 76-83., 2.
15. Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. *BMC Med*. 2013 Jun 26;11:154.
16. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet*. 2006 Aug 12;368(9535):601-11.

17. Saravelos SH, Regan L. Unexplained recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2014 ve 41(1):157–66.
18. Kolte AM, Westergaard D, Lidegaard O, Brunak S, Nielsen HS. Chance of live birth: a nationwide, registry-based cohort study. *Hum Reprod.* 2021 ve 36(4):1065–73.
19. Quenby S, Gallos ID, Dhillon-Smith RK, Podesek M, Stephenson MD, Fisher J, et al. Miscarriage matters: the epidemiological, physical, psychological, and economic costs of early pregnancy loss. *Lancet.* 2021 ve 397(10285):1658–67.
20. Cauchi MN, Pepperell R, Kloss M, Lim D. Predictors of pregnancy success in repeated miscarriage. *American journal of reproductive immunology (New York, NY : 1989)* 1991 ve 72-75., 26:.
21. Gowri V, Udayakumar AM, Bsiso W, Al Farsi Y, Rao K. Recurrent early pregnancy loss and consanguinity in Omani couples. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011 ve 90(10):1167–9.
22. Kesmodel U, Wisborg K, Olsen SF, Henriksen TB, Secher NJ. Moderate alcohol intake in pregnancy and the risk of spontaneous abortion. *Alcohol Alcohol.* 2002 ve 37(1):87–92.
23. Chen LW, Wu Y, Neelakantan N, Chong MF, Pan A, van Dam RM. Maternal caffeine intake during pregnancy and risk of pregnancy loss: a categorical and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Public Health Nutr.* 2016 ve 19(7):1233–44.
24. Bates SM, Middeldorp S, Rodger M, James AH, Greer I. Guidance for the treatment and prevention of obstetric-associated venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis* 2016 ve 92-128., 41:.
25. Wilson WA, Gharavi AE, Koike T, Lockshin MD, Branch DW, Piette JC, Brey R, Derksen R, Harris EN, Hughes GR, Triplett DA, Khamashta MA. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome: report of an international workshop. *Arthritis Rheum.* 1999 Jul;42(7):1309-11.
26. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006 ve 4(2):295–306.
27. Tebo AE, Jaskowski TD, Hill HR, Branch DW. Clinical relevance of multiple antibody specificity testing in anti-phospholipid syndrome and recurrent pregnancy loss. *Clin Exp Immunol.* 2008 ve 154(3):332–8.
28. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet (London, England)* 2003 ve 901-908., 361:.
29. Levin BL, Varga E. MTHFR: Addressing Genetic Counseling Dilemmas Using Evidence-Based Literature. *Journal of genetic counseling* 2016 ve 901-911., 25:.
30. Bates SM, Greer IA, Middeldorp S, Veenstra DL, Prabulos AM, Vandvik PO. VTE, thrombophilia, antithrombotic therapy, and pregnancy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012 Feb;141(2 Suppl):e691S-e736S.
31. Van den Berg MM, van Maarle MC, van Wely M, Goddijn M. Genetics of early miscarriage. *Biochimica et biophysica acta* 2012 ve 1951-1959., 1822:.
32. Zhu X, Li J, Zhu Y, Wang W, Wu X, Yang Y, et al. Application of chromosomal microarray analysis in products of miscarriage. *Mol Cytogenet.* 2018 ve 11:44.
33. Levy B, Sigurjonsson S, Pettersen B, Maisenbacher MK, Hall MP, Demko Z, Lathi RB, Tao R, Aggarwal V, Rabinowitz M. Genomic imbalance in products of

- conception: single-nucleotide polymorphism chromosomal microarray analysis. *Obstet Gynecol.* 2014 Aug;124(2 Pt 1):202-209.
34. Philipp T, Philipp K, Reiner A, Beer F, Kalousek DK. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. *Hum Reprod.* 2003 ve 18(8):1724–32.
  35. Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril.* 2000 ve 73(2):300–4.
  36. Suzumori N, Sugiura-Ogasawara M. Genetic Factors as a Cause of Miscarriage. *Curr Med Chem.* 2010 ve 17(29):3431–7.
  37. De Braekeleer M, Dao TN. Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. *Hum Reprod.* 1990 ve 5(5):519–28.
  38. Barber JC, Cockwell AE, Grant E, Williams S, Dunn R, Ogilvie CM. Is karyotyping couples experiencing recurrent miscarriage worth the cost? *BJOG.* 2010 ve 117(7):885–8.
  39. Franssen MT, Korevaar JC, van der Veen F, Leschot NJ, Bossuyt PM, Goddijn M. Reproductive outcome after chromosome analysis in couples with two or more miscarriages: index [corrected]-control study. *BMJ.* 2006 ve 332(7544):759–63.
  40. Flynn H, Yan J, Saravelos SH, Li TC. Comparison of reproductive outcome, including the pattern of loss, between couples with chromosomal abnormalities and those with unexplained repeated miscarriages. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014 ve 40(1):109–16.
  41. Saravelos SH, Cocksedge KA, Li TC. Prevalence and diagnosis of congenital uterine anomalies in women with reproductive failure: a critical appraisal. *Hum Reprod Update.* 2008 ve 14(5):415–29.
  42. Chan YY, Jayaprakasan K, Zamora J, Thornton JG, Raine-Fenning N, Coomarasamy A. The prevalence of congenital uterine anomalies in unselected and high-risk populations: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2011 ve 17(6):761–71.
  43. Venetis CA, Papadopoulos SP, Campo R, Gordts S, Tarlatzis BC, Grimbizis GF. Clinical implications of congenital uterine anomalies: a meta-analysis of comparative studies. *Reprod Biomed Online.* 2014 ve 29(6):665–83.
  44. Hooker AB, Lemmers M, Thurkow AL, Heymans MW, Opmeer BC, Brölmann HA, Mol BW, Huirne JA. Systematic review and meta-analysis of intrauterine adhesions after miscarriage: prevalence, risk factors and long-term reproductive outcome. *Hum Reprod Update.* 2014 Mar-Apr;20(2):262-78.
  45. Jaslow CR, Kutteh WH. Effect of prior birth and miscarriage frequency on the prevalence of acquired and congenital uterine anomalies in women with recurrent miscarriage: a cross-sectional study. *Fertility and sterility* 2013 ve 1916-1922.e1911., 99:.
  46. Saravelos SH, Yan J, Rehmani H, Li TC. The prevalence and impact of fibroids and their treatment on the outcome of pregnancy in women with recurrent miscarriage. *Human reproduction (Oxford, England)* 2011 ve 3274-3279., 26:.
  47. Younes G, Tulandi T. Effects of adenomyosis on in vitro fertilization treatment outcomes: a meta-analysis. *Fertility and sterility* 2017 ve 483-490.e483., 108:.
  48. Hanson U, Persson B, Thunell S. Relationship between haemoglobin A1C in early type 1 (insulin-dependent) diabetic pregnancy and the occurrence of spontaneous abortion and fetal malformation in Sweden. *Diabetologia.* 1990 ve 33(2):100–4.

49. Bussen S, Sutterlin M, Steck T. Endocrine abnormalities during the follicular phase in women with recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod.* 1999 ve 14(1):18–20.
50. Bernardi LA, Cohen RN, Stephenson MD. Impact of subclinical hypothyroidism in women with recurrent early pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2013 ve 100(5):1326–31.
51. Zhang Y, Wang H, Pan X, Teng W, Shan Z. Patients with subclinical hypothyroidism before 20 weeks of pregnancy have a higher risk of miscarriage: A systematic review and meta-analysis. *PloS one.* 2017 ve 12(4):e0175708.
52. van den Boogaard E, Vissenberg R, Land JA, van Wely M, van der Post JA, Goddijn M, et al. Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum Reprod Update.* 2011.
53. Thangaratinam S, Tan A, Knox E, Kilby MD, Franklyn J, Coomarasamy A. Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *BMJ.* 2011 ve 342:d2616.
54. Cocksedge KA, Li TC, Saravelos SH, Metwally M. A reappraisal of the role of polycystic ovary syndrome in recurrent miscarriage. *Reprod Biomed Online.* 2008 ve 17(1):151–60.
55. Zolghadri J, Tavana Z, Kazerooni T, Soveid M, Taghieh M. Relationship between abnormal glucose tolerance test and history of previous recurrent miscarriages, and beneficial effect of metformin in these patients: a prospective clinical study. *Fertil Steril.* 2008 Sep;90(3):727-30.
56. Li W, Ma N, Laird SM, Ledger WL, Li TC. The relationship between serum prolactin concentration and pregnancy outcome in women with unexplained recurrent miscarriage. *J Obstet Gynaecol.* 2013 Apr;33(3):285-8.
57. Hirahara F, Andoh N, Sawai K, Hirabuki T, Uemura T, Minaguchi H. Hyperprolactinemic recurrent miscarriage and results of randomized bromocriptine treatment trials. *Fertil Steril.* 1998 ve 70(2):246–52.
58. Li TC, Spuijbroek MD, Tuckerman E, Anstie B, Loxley M, Laird S. Endocrinological and endometrial factors in recurrent miscarriage. *BJOG.* 2000 ve 107(12):1471–9.
59. Ogasawara M, Kajiura S, Katano K, Aoyama T, Aoki K. Are serum progesterone levels predictive of recurrent miscarriage in future pregnancies? *Fertil Steril.* 1997 ve 68(5):806–9.
60. Check JH. A practical approach to the prevention of miscarriage. Part 4--role of infection. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2010;37(4):252-5
61. Hay PE, Lamont RF, Taylor-Robinson D, Morgan DJ, Ison C, Pearson J. Abnormal bacterial colonisation of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *BMJ.* 1994 ve 308(6924):295–8.
62. Ralph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study. *BMJ.* 1999 ve 319(7204):220–3.
63. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Pinto V, Marinaccio M, Indraccolo U, De Ziegler D, Resta L. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with

- recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reprod Sci.* 2014 May;21(5):640-7.
64. Bouet PE, El Hachem H, Monceau E, Gariépy G, Kadoch IJ, Sylvestre C. Chronic endometritis in women with recurrent pregnancy loss and recurrent implantation failure: prevalence and role of office hysteroscopy and immunohistochemistry in diagnosis. *Fertil Steril.* 2016 Jan;105(1):106-10.
  65. Liu Y, Wong KK, Ko EY, Chen X, Huang J, Tsui SK, Li TC, Chim SS. Systematic Comparison of Bacterial Colonization of Endometrial Tissue and Fluid Samples in Recurrent Miscarriage Patients: Implications for Future Endometrial Microbiome Studies. *Clin Chem.* 2018 Dec;64(12):1743-1752.
  66. Rimmer MP, Fishwick K, Henderson I, Chinn D, Al Wattar BH, Quenby S. Quantifying CD138+ cells in the endometrium to assess chronic endometritis in women at risk of recurrent pregnancy loss: A prospective cohort study and rapid review. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Feb;47(2):689-697.
  67. du Fossé NA, van der Hoorn MP, van Lith JMM, le Cessie S, Lashley E. Advanced paternal age is associated with an increased risk of spontaneous miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update 2020* ve 650-669., 26:.
  68. Li J, Luo L, Diao J, Li Y, Zhang S, Chen L, Yang T, Qin J. Male sperm quality and risk of recurrent spontaneous abortion in Chinese couples: A systematic review and meta-analysis. *Medicine* 2021 ve e24828., 100:.
  69. Ruixue W, Hongli Z, Zhihong Z, Rulin D, Dongfeng G, Ruizhi L. The impact of semen quality, occupational exposure to environmental factors and lifestyle on recurrent pregnancy loss. *Journal of assisted reproduction and genetics* 2013 ve 1513-1518., 30:.
  70. Meuleman T, Lashley LE, Dekkers OM, van Lith JM, Claas FH, Bloemenkamp KW. HLA associations and HLA sharing in recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis. *Hum Immunol.* 2015 ve 76(5):362-73.
  71. Fan W, Li S, Huang Z, Chen Q. Relationship between HLA-G polymorphism and susceptibility to recurrent miscarriage: a meta-analysis of non-family-based studies. *J Assist Reprod Genet* 2014 ve 173-184., 31:.
  72. Wang X, Jiang W, Zhang D. Association of 14-bp insertion/deletion polymorphism of HLA-G gene with unexplained recurrent spontaneous abortion: A meta-analysis *Tissue antigens.* 2013, pp. 108-115.
  73. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today.* 1993 ve 14(7):353-6.
  74. Wang NF, Kolte AM, Larsen EC, Nielsen HS, Christiansen OB. Immunologic Abnormalities, Treatments, and Recurrent Pregnancy Loss: What Is Real and What Is Not? *Clin Obstet Gynecol.* 2016 ve 59(3):509-23.
  75. Amani D, Dehaghani AS, Zolghadri J, Ravangard F, Niikawa N, Yoshiura K, Ghaderi A. Lack of association between the TGF-beta1 gene polymorphisms and recurrent spontaneous abortion. *Journal of reproductive immunology* 2005 ve 91-103., 68:.

76. Choi YK, Kwak-Kim J. Cytokine gene polymorphisms in recurrent spontaneous abortions: a comprehensive review. *American journal of reproductive immunology* (New York, NY : 1989) 2008 ve 91-110., 60:.
77. Vomstein K, Feil K, Strobel L, Aulitzky A, Hofer-Tollinger S, Kuon RJ, et al. Immunological Risk Factors in Recurrent Pregnancy Loss: Guidelines Versus Current State of the Art. *J Clin Med.* 2021 ve 10(4):869.
78. Laird SM, Mariee N, Wei L, Li TC. Measurements of CD56+ cells in peripheral blood and endometrium by flow cytometry and immunohistochemical staining in situ. *Hum Reprod.* 2011 ve 26(6):1331–7.
79. Katano K, Suzuki S, Ozaki Y, Suzumori N, Kitaori T, Sugiura- Ogasawara M. Peripheral natural killer cell activity as a predictor of recurrent pregnancy loss: a large cohort study. *Fertil Steril.* 2013 ve 100(6):1629–34.
80. Clifford K, Flanagan AM, Regan L. Endometrial CD56+ natural killer cells in women with recurrent miscarriage: a histomorpho- metric study. *Hum Reprod.* 1999 ve 14(11):2727–30.
81. Quenby S, Bates M, Doig T, Brewster J, Lewis-Jones DI, Johnson PM, et al. Pre-implantation endometrial leukocytes in women with re- current miscarriage. *Hum Reprod.* 1999 ve 14(9):2386–91.
82. Seshadri S, Sunkara SK. Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2014 ve 20(3):429–38.
83. Lash GE, Bulmer JN, Li TC, Innes BA, Mariee N, Patel G, et al. Standardisation of uterine natural killer (uNK) cell measurements in the endometrium of women with recurrent reproductive failure. *J Reprod Immunol.* 2016 ve 116:50–9.
84. Chen X, Mariee N, Jiang L, Liu Y, Wang CC, Li TC, Laird S. Measurement of uterine natural killer cell percentage in the periimplantation endometrium from fertile women and women with recurrent reproductive failure: establishment of a reference range. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 Dec;217(6):680.
85. The ESHRE Guideline Group on RPL, an update in 2022.
86. Bohlmann MK, von Wolff M, Luedders DW, Beuter-Winkler P, Diedrich K, Hornemann A, Strowitzki T. Hysteroscopic findings in women with two and with more than two first-trimester miscarriages are not significantly different. *Reprod Biomed Online.* 2010 Aug;21(2):230-6.
87. Makris N, Kalmantis K, Skartados N, Papadimitriou A, Mantzaris G, Antsaklis A. Three-dimensional hysterosonography versus hysteroscopy for the detection of intracavitary uterine abnormalities. *Int J Gynaecol Obstet.* 2007 Apr;97(1):6-9.
88. Ng KYB, Cherian G, Kermack AJ, Bailey S, Macklon N, Sunkara SK, et al. Systematic review and meta-analysis of female lifestyle factors and risk of recurrent pregnancy loss. *Sci Rep.* 2021 ve 11(1):7081.
89. Saravelos SH, Regan L. The importance of preconception coun- seling and early pregnancy monitoring. *Semin Reprod Med.* 2011 ve 29(6):557–68.

90. Empson M, Lassere M, Craig J, Scott J. Prevention of recurrent miscarriage for women with antiphospholipid antibody or lupus anticoagulant. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005(2):CD002859, 2012.
91. Liu X, Qiu Y, Yu ED, Xiang S, Meng R, Niu KF, et al. Comparison of therapeutic interventions for recurrent pregnancy loss in association with antiphospholipid syndrome: A systematic review and network meta-analysis. *Am J Reprod Immunol.* 2020 ve 83(4):e13219.
92. Rai RS, Regan L, Chitolie A, Donald JG, Cohen H. Placental thrombosis and second trimester miscarriage in association with activated protein C resistance. *Br J Obstet Gynaecol.* 1996 ve 103(8):842–4.
93. Jiang Y, Wang L, Wang B, Shen H, Wu J, He J, et al. Reproductive outcomes of natural pregnancy after hysteroscopic septum resection in patients with a septate uterus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2023 ve 5(1):100762.
94. Bosteels J, van Wessel S, Weyers S, Broekmans FJ, D'Hooghe TM, Bongers MY, et al. Hysteroscopy for treating subfertility associated with suspected major uterine cavity abnormalities. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 ve 12:CD009461.
95. Iews M, Tan J, Taskin O, Alfaraj S, AbdelHafez FF, Abdellah AH, Bedaiwy MA. Does preimplantation genetic diagnosis improve reproductive outcome in couples with recurrent pregnancy loss owing to structural chromosomal rearrangement? A systematic review. *Reprod Biomed Online.* 2018 Jun;36(6):677-685.
96. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, Chen H, Dosiou C, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid.* 2017 ve 27(3):315–89.
97. Saccone G, Schoen C, Franasiak JM, Scott RT Jr, Berghella V. Supplementation with progestogens in the first trimester of pregnancy to prevent miscarriage in women with unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *Fertil Steril.* 2017 Feb;107(2):430-438.e3.
98. Wong LF, Porter TF, Scott JR. Immunotherapy for recurrent miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 ve 2014(10):CD000112.
99. Dimitriadis E., White C. A., Jones R. L. & Salamonsen L. A. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation. *Hum Reprod Update* 11, 613–630, 10.1093/humupd/dmi023 (2005).
100. Salamonsen L. A., Nie G., Hannan N. J. & Dimitriadis E. Society for Reproductive Biology Founders' Lecture 2009. Preparing fertile soil: the importance of endometrial receptivity. *Reproduction, fertility, and development* 21, 923–934, 10.1071/RD09145(2009).
101. Dimitriadis E., Menkhorst E., Salamonsen L. A. & Paiva P. Review: LIF and IL11 in trophoblast-endometrial interactions during the establishment of pregnancy. *Placenta* 24, S99–104 (2010).

102. Joseph A, Hossain P, Jham S, Jones RE, Tighe P, McIntosh RS, Dua HS. Expression of CD34 and L-selectin on human corneal keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 Nov;44(11):4689-92.
103. Poblet E, Jiménez F, Godínez JM, Pascual-Martín A, Izeta A. The immunohistochemical expression of CD34 in human hair follicles: a comparative study with the bulge marker CK15. *Clin Exp Dermatol.* 2006 Nov;31(6):807-12.
104. Rungsiwiwut R, Rungarunlert S, Numchaisrika P, Pruksananonda K, Techakumphu M, Virutamasen P. Effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on the quality of in vitro produced mouse blastocysts and subsequent derivation of embryonic stem (ES) cells. *J Med Assoc Thai* 2008;91:608–14.
105. Haines BP, Voyle RB, Rathjen PD. Intracellular and extracellular leukemia inhibitory factor proteins have different cellular activities that are mediated by distinct protein motifs. *Mol Biol Cell* 2000 ve 11:1369–83.
106. Mikolajczyk M, Wirstlein P, Skrzypczak J. Leukaemia inhibitory factor and interleukin 11 levels in uterine flushings of infertile patients with endometriosis. *Hum Reprod* 2006 ve 21:3054–8.
107. Aghajanova L. Leukemia inhibitory factor and human embryo implantation. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Dec;1034:176-83.
108. Mikolajczyk M, Wirstlein P, Skrzypczak J. Leukaemia inhibitory factor and interleukin 11 levels in uterine flushings of infertile patients with endometriosis. *Hum Reprod* 2006 ve 21:3054–8.
109. Illera MJ, Juan L, Stewart CL, Cullinan E, Ruman J, Lessey BA. Effect of peritoneal fluid from women with endometriosis on implantation in the mouse model. *Fertil Steril* 2000 ve 74:41–8.
110. Sherwin JR, Smith SK, Wilson A, Sharkey AM. Soluble gp130 is up-regulated in the implantation window and shows altered secretion in patients with primary unexplained infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 2002 ve 3953–60., 87:.
111. Popravka ES, Dyatlova AS, Lin'kova NS, Krylova YS, Polyakova VO, Kvetnoi IM. Role of LIF Cytokine and CD34 Angiogenesis Marker in Non-Developing Pregnancy. *Bull Exp Biol Med.* 2017 Oct ve PMID:, 163(6):772-776. doi: 10.1007/s10517-017-3900-1. Epub 2017 Oct 24.