



T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PLASENTA PREVİA HASTALARINDA
KİSSPEPTİN İFADE DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. YUNUS KATIRCI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

SAMSUN-2022



T.C.
ONDOKUZMAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PLASENTA PREVİA HASTALARINDA
KİSSPEPTİN İFADE DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. YUNUS KATIRCI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Doç. Dr. A. Zehra ÖZDEMİR

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından **PYO.TIP.1904.21.29**
kodlu proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN-2022

TEŞEKKÜR

Çalıőmamı hazırlarken her konuda bilgi ve deneyimi ile yol gösteren, destek olan danıőman hocam Doç. Dr. Ayşe Zehra ÖZDEMİRE'e teőekkürlerimi sunarım. Bu süreç boyunca yardımlarımı esirgemeyen ve çalıőmamda büyük emeği geçen Histoloji Ana Bilim Dalı'ndan Dr. Adem KOCAMAN'a, ayrıca tüm asistanlık sürecinde bana her konuda emek veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakóltesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarım ve çalışma arkadaşlarıma ayrı ayrı teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan, beni destekleyen aileme; özellikle sevgili anneme, babama, kardeőime, oğlum Alp KATIRCI ve eőim Dr. Yeliz KATIRCI'a teőekkürlerimi sunarım.

Dr. YUNUS KATIRCI

19/08/2022

BEYAN

“Plasenta Previa hastalarında kisspeptin ifade düzeylerinin değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, başka bir çalışmadan kopya edilmediğini, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.



ÖZET

Amaç

Plasenta previa etiyolojisinde kisspeptin düzeylerinin olası etkisinin tespiti, hamileliğin erken dönemlerinde plasenta previa tanı ve teşhisinde önemli bir rol oynayabilir. Bu araştırmada, plasenta previa tanısı alan hastalar ile normal gebelikler arasında kisspeptin ifade düzeylerindeki olası değişikliklerin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Hastalar ve Yöntem

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Perinatoloji polikliniğinde 2021-2022 yılları arasında plasenta previa tanısı almış gebeler ve normal gebeler çalışmaya dahil edildi. Gravida, parite, gebelik haftası, anne yaşı ve plasantanın yeri değerlendirildi. Plazma kisspeptin seviyeleri biyokimyasal olarak, plasenta kisspeptin ve kisspeptin reseptörü gen ifade düzeyi genetik olarak, plasenta kisspeptin düzeyi immünohistokimyasal olarak tespit edildi.

Bulgular

Serumda KISS1 konsantrasyon düzeyinin değerlendirmesi sonucunda, kontrol grubunda plasenta previa grubuna oranla belirgin bir artış ve istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol ve plasenta previa grupları arasında gerçekleştirilen istatistiksel değerlendirme neticesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p<0,05$). Kontrol grubunda *KISS1R* gen ifade düzeyinin belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Plasenta previalı hastalarda kontrol grubundaki hastalara göre kisspeptin ifade düzeyleri daha düşük çıkmıştır. Hem biyokimyasal ve immünohistokimyasal hem de genetik analizler neticesinde alınan bulgular, plasenta previalı hastalarda kisspeptin ifade düzeyinin ciddi oranda daha düşük olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: fetal ultrasonografi, plasenta previa, kisspeptin, plasenta

ABSTRACT

Objective

Detection of the possible effect of kisspeptin levels on the etiology of placenta previa may play a crucial role in the diagnosis of the placenta previa in the early stages of pregnancy. In this study, we aimed to determine possible changes in kisspeptin expression levels between patients diagnosed with placenta previa and normal pregnancies.

Materials and Methods

Pregnant and normal pregnant women who were diagnosed with placenta previa in Ondokuz Mayıs University Gynecology and Obstetrics Perinatology outpatient clinic between 2021-2022 were included in the study. Gravida, parity, gestational week, maternal age and placenta location were evaluated. Plasma kisspeptin levels were determined biochemically, placenta kisspeptin and kisspeptin receptor gene expression levels were determined genetically, and placenta kisspeptin levels were determined immunohistochemically.

Results

As a result of the evaluation of the KISS1 concentration level in the serum, a significant increase in the control group compared to the placenta previa group and a statistically significant difference was observed ($p < 0.001$). As a result of the statistical evaluation performed between the control and placenta previa groups, a statistically significant difference was found between the groups ($p < 0.05$). It was observed that the KISS1R gene expression level was significantly higher in the control group.

Conclusions

In our current study, kisspeptin expression levels were found to be lower in patients with placenta previa compared to patients in the control group. Findings obtained as a result of both biochemical, immunohistochemical and genetic analyzes showed that kisspeptin expression level was significantly lower in patients with placenta previa.

Keywords: fetal ultrasonography, placenta previa, kisspeptin, placenta

İÇİNDEKİLER	<u>Sayfa</u>
TEŞEKKÜR	i
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
BEYAN	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Plasenta Previa Tanım	4
2.2. Epidemiyoloji	4
2.3. Etiyoloji	4
2.4. Sınıflama	6
2.5. Patogenez	7
2.6. Patofizyoloji	7
2.7. Klinik Seyir	8
2.8. Tanı	9
2.9. Plasenta Previa ile İlişkili Durumlar	10
2.9.1. Plasenta akreata spektrumu (PAS).....	10
2.9.2. Erken doğum.....	11
2.9.3. İntrauterin gelişme geriliği.....	11
2.9.4. Malprezentasyon	11
2.9.6. Amniyotik sıvı embolisi.....	12
2.9.7. Umbilikal kord anomalileri.....	12
2.9.7. Yönetim	12
2.10. Kisspeptinler	16
3. HASTALAR VE YÖNTEM	19
3.1. Olguların Çalışmaya Dahil Edilmesi, Rutin Takip Protokollerinin Gerçekleştirilmesi	19
3.2. Olgulara Ait Plazma ve Plasenta Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	20
3.3. Plazmada KISS1 Düzeyinin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi	21
3.4. Reaktiflerin Hazırlanması	21
3.5. Plazma ve Plasenta Örneklerinden Total RNA İzolasyonu, cDna Eldesi ve qRT-PCR Analizi	24

3.5.1. Total RNA izolasyonu ve konsantrasyon tayini	24
3.5.2. cDNA eldesi.....	25
3.5.3. qRT-PCR analizi.....	25
3.6. Plasenta Örneklerinin Rutin Histolojik Takibi, Dokuların Parafine Gömülmesi ve Uygun Kalınlık ve Aralıkta Kesit Alımı	28
3.6.1. Dokuların fikse edilmesi	28
3.6.2. Rutin histolojik işlemleri	28
3.6.3. Kesit alma işlemi	29
3.6.4. Boyama işlemi	29
3.7. Plasenta Örneklerinde KISS1 ve KISS1R Protein İfade Düzeyinin İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi	30
3.8. İstatiksel Analizlerin Gerçekleştirilmesi	30
4. BULGULAR	31
4.1. Demografik Verilerin Analizi.....	31
4.2. Biyokimyasal Analizlerden Elde Edilen Bulgular	34
4.2.1. KISS1 düzeyinin serumda değerlendirilmesi.....	34
4.3. Gen Analiz Sonuçları	36
4.3.1. Total RNA konsantrasyonları ve saflık oranları	36
4.3.2. Gen ifade düzeylerinin analizi	37
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇLAR	46
7. KAYNAKLAR	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PP	: Plasenta previa
PAS	: Plasenta Akreata Spektrumu
MR	: Manyetik Rezonans
IUGR	: İntrauterin Gelişme Geriliği
NST	: Non-Stress Test
ARC	: Arkuat Nucleus
POA	: Preoptik Alan
AVPV	: Anteroventral Periventriküler Nükleus
MRG	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
OD	: Optik Yoğunluğunu
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi Ortalamaları

TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Tablo 1. Plasenta previa ile ilişkili risk faktörleri (20, (17), (2).....	6
Tablo 2. Çalışma kapsamında kullanılacak olan primerlere ait genel bilgiler	25
Tablo 3. PCR hazırlık protokolü	26
Tablo 4. PCR döngü koşulları	26
Tablo 5. qRT-PCR reaksiyon hazırlanması.....	27
Tablo 6. qRT-PCR döngü koşulları.....	27
Tablo 7. Hastalara ait veriler	31
Tablo 8. Total RNA konsantrasyonları ve saflık düzeyleri (A260/280)	36
Şekil 1. Referans solüsyonlarının hazırlanması	22
Şekil 2. ELISA protkolünün gösterimi	22
Şekil 3. Substrat reaktifi eklendikten sonra kuyucuklarda konsantrasyona göre renk değişimi gözlenmesinin gösterimi.....	23
Şekil 4. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra kuyucuklardaki renk değişiminin gösterimi.....	24
Şekil 5. Gönüllülere ait gravida değerleri dağılımı	32
Şekil 6. Gönüllülere ait yaş dağılımı.....	32
Şekil 7. Gönüllülere ait parite değerleri dağılımı.....	33
Şekil 8. Gönüllülere ait gebelik haftası dağılımı.....	33
Şekil 9. Serum KISS1 düzeyinin kontrol ve plasenta previa grupları arasındaki farkı gösteren grafik (ortalama \pm SH), *** $p < 0,001$	34
Şekil 10. Serum KISS1 düzeyinin kontrol grubunda 2. ve 3. trimester arasındaki farkını gösteren grafik (ortalama \pm SH)	35

Şekil 11. Serum KISS1 düzeyinin plasenta previa grubunda 2. ve 3. trimester arasındaki farkını gösteren grafik (ortalama \pm SH), * $p < 0,05$	35
Şekil 12. GAPDH genine ait Ct değerlerinin (ortalama \pm SH) gösterimi.....	38
Şekil 13. <i>KISS1</i> genine ait Ct değerlerinin (ortalama \pm SH) gösterimi.....	39
Şekil 14. <i>KISS1R</i> genine ait Ct değerlerinin (ortalama \pm SH) gösterimi	40
Şekil 15. <i>KISS1</i> ve <i>KISS1R</i> gen ifade değişiminin gruplar arası oransal farkının gösterimi.....	41



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Plasenta gelişimi hamilelik için kritik öneme sahiptir. En büyük fetal organ olarak fetüsün gelişimi ve korunmasında olağanüstü işlevlere sahiptir (1). Plasentanın gebelikte yerleşim yeri ve anatomisi ile ilgili anormallikler görülebilmektedir. Plasenta previa ve anormal invazif plasentalar antepartum, intrapartum ve doğum sonrası kanama riski oluşturur (1). İnsidansı, sezaryen oranından dolayı ağırlıklı olarak artmaktadır (2). Plasenta Previa nedenleri arasında, geçirilen uterus ameliyatları veya küretaj, anne yaşı ve multipartite, endometriozis, sigara ve yardımcı üreme teknikleri yer almaktadır (3). Bu duruma yönelik tedavi seçenekleri azdır ve gebelik genellikle sezaryen ile sonuçlandırılır. Bu da gelecekteki gebeliklerde plasental anormalliklerin görülme sıklığının artması demektir. Klasik inflamatuvar hasar teorisine ek olarak, anormal anjiyogenez son zamanlarda plasenta previa'nın altında yatan yeni bir mekanizma olarak kabul edilmiştir (4). Bugüne kadar, sezaryen, dilatasyon ve küretaj gibi uterus cerrahisini azaltmak ve yardımcı üreme tekniklerinin gereksiz kullanımından kaçınmak dışında yeterli önleyici stratejiler geliştirilememiştir. Hayvan ve insan çalışmalarından elde edilen veriler, çeşitli düzenleyici moleküllerin trofoblast invazyonunun ve plasental anjiyogenezin kontrolünde işlevsel roller üstlendiğini göstermektedir (5). Normal trofoblast invazyonu ve göçü, plasentanın gelişimi için çok önemlidir. Bu süreçlerin erken aşamadan itibaren sekteye uğraması iskemiye, uteroplasental akışta azalmaya yol açarak plasentanın yapısını ve işlevini bozar (5). Bu noktada, son yıllarda implantasyon ve plasenta gelişimi ile ilişkilendirilen kisspeptin (KISS1) dikkatleri çekmektedir.

Plasenta previa (PP) plasenta dokusunun servikal osu tamamen veya kısmen kapatması olarak tanımlanan plasentasyon anomalisidir. Prevalansı dünya çapında değişiklik göstermekle beraber 1000 doğumda yaklaşık 4'tür (1). Anne ve yenidoğanda morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Doğum öncesi ciddi kanamalara ve erken doğuma neden olabilmektedir. Postpartum kanama ile peripartum histerektomi içinde majör bir risk faktörüdür (6). 18-20. gebelik haftasından sonra vajinal kanama ile başvuran her gebe kadında PP varlığı akla gelmelidir (7). Bu hastalarda bimanuel vajinal muayene anormal yerleşimli plasentada ciddi kanamaya neden olabilir. Bu nedenle bu hastaların bimanuel vajinal muayene öncesinden plasentanın yerinin belirlenmesi için ultrason

ile değerlendirilmesi ve prenatal tanısı gerekmektedir (7). Ayrıca yüksek riskli olması nedeniyle PP hastalarında normal doğum yerine sezaryen ile doğum ihtiyacı bulunmaktadır (8).

PP varlığı, plasentasyon invazyon anomalisi olan plasenta akreata spektrumu (PAS) riskini de artırabilmektedir (9). PAS plasentanın myometriyuma invazyonu için kullanılan genel bir terimdir (10). Plasentanın myometriyuma invazyon derecesine göre plasenta akreata, inkreata veya perkreata tanımlarını içermektedir. Prevalansı %0,01 ile %1,1 arasında değişiklik göstermektedir (11). Bilinen en önemli risk faktörü, daha önceki sezaryen doğum sonrası meydana gelen PP'dir (8). PAS da PP'ye benzer şekilde önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Doğum sonu kanamaya ve erken doğuma neden olabilmektedir (11).

Kisspeptinler Kiss-1 geni tarafından transkripte edilen bir öncül proteinden türeyen nöropeptidlerdir. İlk olarak 1996 yılında insan malign melanoma hücre kültürlerinde antimetastatik etkileri nedeniyle metastin adıyla tanımlanmışlardır (12). KISS1R isimli reseptörü aracılığıyla hipotalamo-hipofizer aksı etkileyerek puberte ve fertilitte üzerinde etkilerinin olduğu gösterilmiştir (13). Son yıllarda yapılan çalışmalarda kisspeptin peptidlerinin plasenta gelişiminde de rolü olduğu iddia edilmektedir. Periferik kisspeptin ekspresyonunun en yüksek düzeyde olduğu hücrelerin trofoblastik hücreler olması da bu iddiayı desteklemektedir. Gestasyonel trofoblastik hastalıklarda plasental kisspeptin düzeyinin normal gebeliklere göre artmış olduğu gösterilmiştir (14).

PP; kontrolsüz sezaryene, kanamaya, histerektomi gereksinimine, yoğun bakım ünitesi ihtiyacına ve anne ölümüne neden olabilmektedir. PP ve PAS'ın prenatal tanısının mortalite ve morbiditeyi azalttığı gösterilmiştir (12). Her iki patolojide de bulunan bu yüksek riskli komplikasyonlar nedeniyle PP ve PAS'ın erken dönemde saptanması ve önlenmesi için patogenezinde rol oynayan faktörlerin belirlenmesi önem arz etmektedir. Fertilitte ve plasenta gelişimi üzerinde etkisi olan kisspeptinlerin plasental anomali olan PP ve PAS ile ilişkisinin olabileceğini düşünmekteyiz. Bu hasta gruplarında kisspeptin ifadelerinin araştırılması bu hastalıkların patogenezi ve prenatal

tanıları ile ilgili yeni araştırmalara yol gsterici olacaktır. Bu nedenle PP ve PAS hastalarında plasental dokuda kisspeptin dzeylelerini araştırmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Plasenta Previa Tanım

PP viabilite sınırını aşan fetüsün plasentasının çeşitli etmenlerin sonucu olarak internal servikal osu kısmen ya da tamamen kapatmasıdır ve bir plasentasyon anomalisidir (14). Previa kelimesi Latincece önceki anlamındadır. Plasenta previa ise doğum kanalında fetüsten önce gelen bir plasentayı ifade etmektedir.

2.2. Epidemiyoloji

PP prevalansı 58 çalışmanın değerlendirildiği bir meta-analize göre 1000 canlı doğumda yaklaşık 4 olmakla beraber 2,8-19,7 arasında değişmektedir (15). PP prevalansı dünya çapında farklılık göstermektedir. Asya'da 1000 doğumda 12,2 iken, Avrupa'da 3,6, Kuzey Amerika'da 2,9 ve Afrika'da 2,7'dir (16). Ayrıca PP sıklığında son yıllarda artış izlenmektedir. Bu artış ön planda hızla artan sezaryen oranları ile ilişkilendirilmiştir (15). PP sıklığı gebeliğin erken haftalarında daha yüksekken ileri gebelik haftalarında daha düşüktür. Gebeliğin erken haftalarında plasenta aşağı segmentte tespit edilse bile 20. gebelik haftasından sonra üst segmente çekilebilir. Bu durumu açıklamak için "Plasenta göçü" terimi kullanılmış ve iki teori ile açıklanmaktadır. İlk teori gebelik haftası ilerledikçe, alt uterin segmentin gelişmesiyle birlikte plasentanın servikal ostan uzaklaştığıdır. İkinci teori ise trofoblastik dokunun vaskülarizasyonun daha iyi olduğu uterus fundusa doğru büyüyerek servikal ostan uzaklaşması şeklindedir (17). Bu durum sonucunda gebeliğin ileri haftalarında PP sıklığı azalmaktadır.

2.3. Etiyoloji

PP'nin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Birçok faktör suçlanmakla beraber öncelikli olarak endometriyal hasar ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir (2). Plasenta previa gelişimine neden olan bilinen risk faktörleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu risk faktörlerinden önceki gebeliklerde var olan PP öyküsü sonraki gebeliklerde %4-8 oranında tekrarlama riskini arttırmaktadır (18), (19). Sezaryen ile doğum öyküsünün bulunması PP gelişimini %47-60 oranında arttırmaktadır ve önemli bir risk faktörüdür (18, 19). Sezaryen sayısı arttıkça risk daha da artmaktadır (19), (20). Kürtaj ve myomektomi öyküsü de PP riskini

arttırmaktadır. Geçirilmiş uterin operasyonlar sonrası PP riskindeki artışa endometriyal skarlaşmanın neden olduğu düşünülmektedir (2).

Çoğul gebeliklerde plasenta previa prevalansı, ikiz doğumlarda tekil doğumlara göre (sırasıyla 1000 doğumda 3,9 ve 2,8) %40 daha yüksektir (21). Dikoryonik ikiz gebeliklerin, monokoryonik ikiz gebeliklere veya tekil gebeliklere göre PP'ye sahip olma olasılığı daha yüksektir (21). Fetüs cinsiyeti de PP riski ile ilişkilendirilmiştir. Erkek cinsiyetli fetüsü olan annelerde daha yüksek oranlarda PP izlenmektedir. Bu ilişkinin nedeni net olarak açıklanamamakla beraber erkek fetüslerde daha büyük plasentaların izlenmesi ve alt uterin segmente erkek blastosistinin daha geç implantasyon göstermesi teorileri öne sürülmektedir (22).

PP riskini artıran diğer bir durumda artmış doğum sayısı ve anne yaşıdır. Bir çalışmada PP sıklığı nullipar kadınlarda 1000 gebelikte 2 saptanırken, grandmultipar kadınlarda 1000 gebelikte 22 olarak saptanmış (23). 35 yaşından büyük gebelerde PP riski 4 kat artarken, 40 yaşından büyüklerde 9 kat artmıştır. Ayrıca beyaz olmayan anne ırkı da PP riski ile ilişkilendirilmiştir (9, 20).

Sigara kullanımı PP riskini 3 kat arttıran maternal kaynaklı önlenebilir bir risk faktörüdür (16). Sigaranın karbon monoksit hipoksemisi ile kompanse edilebilir plasenta hipertrofisine neden olduğu düşünülmektedir. Bunun sonucunda inflamatuvar veya atrofik değişimlere bağlı olarak oluşan desidual vaskülarizasyon defektlerinin de plasenta previa oluşumuna katkı sağlayabilmektedir (24). Sigara etyolojisine benzer şekilde yüksek rakımda yaşamının da hipoksemiye neden olarak PP riskini artırdığı düşünülmektedir. Maternal kaynaklı önlenebilir diğer bir risk faktörü olan kokain kullanımı da PP riskini 4 kat arttırmaktadır (25).

Tablo 1. Plasenta previa ile ilişkili risk faktörleri (20, (17), (2))

İleri anne yaşı
Multiparite
Sezaryen öyküsü
Önceki Plasenta previa
Çoğul gebelikler
Sigara kullanımı
Kokain kullanımı
Kürtaj
Yardımcı üreme teknikleri
Uterin arter embolizasyonu
Konjenital uterin arter anomalileri
Erkek fetüs
Etnik köken
Yüksek rakımda yaşama

2.4. Sınıflama

PP sınıflamasında önceden kullanılmakta olan marjinal, parsiyel ve komplet PP tanımları artık kullanılmamaktadır (26). Ulusal sağlık enstitüleri tarafından

desteklenen Fetal Görüntüleme Çalıştayı'nda yeni sınıflama kriterleri önerilmiştir. Bu sınıflama kriterleri şu şekilde dizayn edilmiştir:

-Plasenta previa: İnternal servikal osun tamamen ya da kısmen plasenta ile kapalı olması

-Low-Lying Plasenta: Plasentanın uterin alt segmentte, kenarının internal osu gelmeyecek ancak internal osu yakınlığı da 2 cm'den uzak olmayacak şekilde yerleşmiş olması (27).

PP'nin dört derecesi tanımlanmıştır (17):

G1: Alt segment yerleşimli ancak kenarı internal servikal osu ulaşmayan plasenta

G2: Alt kenarı internal osu ulaşmış fakat osu kapatmamış plasenta

G3: Kenarı osu asimetrik şekilde kapatmış plasenta

G4: Tüm osu simetrik olarak örten plasenta

Başka bir sınıflama kriterinde ise PP yukarıda bahsedilen sınıflama kriterleri temel alınarak minör ve majör PP olarak sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma da G1 ve G2 minör PP grubunda iken G3 ve G4 majör PP grubunda yer almaktadır (28).

2.5. Patogenez

Plasenta previa'nın patogenezi net olarak aydınlatılamamıştır. Bir hipotezde geçirilmiş uterin cerrahi veya gebelik sonrasında uterin kavitenin üst kısımlarında gelişen skar dokusundaki anormal damarlanma ve hipoksik alanların, trofoblastın uterin alt segmente doğru göçünü arttırdığı veya tek yönlü büyümesinde trofoblast implantasyonunu arttırdığı belirtilmiştir (7). Ancak bu hipotez ilk gebeliği ve uterin cerrahi geçirmemiş olanlarda gelişen plasenta previa patogenezi açıklayamamaktadır. Başka bir hipotezde ise çoğul gebelik gibi büyük plasental yüzey alanına ihtiyacı olan gebeliklerde plasentanın servikal os üzerini kapatma olasılığını arttırdığı belirtilmiştir (19).

2.6. Patofizyoloji

Hastalığın patofizyolojisinde görülen en önemli komplikasyon kanamadır. Servikal bölgede kademli olarak birtakım değişiklikler meydana gelmektedir. Bu

değişikliklerin ve uterin kontraksiyonların sonucunda elastik olmayan alt uterin segmentte plasental bağlanma bölgesine uygulanan kuvvet artacak ve kısmi ayrılma ile sonuçlanacaktır. Vajinal muayene ve koitus mekanik etki ile benzer şekilde ayrılmaya ve kanamaya neden olabilir. Bu kanama ön planda intervillöz aralıktan kaynaklı maternal kanamadır. Ancak Fetal damarlarda hasar oluşması durumunda fetüs kaynaklı kanama da olabilir (29). Vajinal muayene sonrası kanama oluşabilir. Bu kanama anne kaynaklı iken fetal damarlarda hasar oluşması durumunda fetüs kaynaklı kanama da olabilir (30).

2.7. Klink Seyir

Plasenta previanın en yaygın görülen klinik seyri rutin ultrasonografi esnasında semptomsuz rastlanmasıdır. 10 ile 20. gebelik haftası arasında prenatal tanı amacıyla yapılan ultrasonografik değerlendirmelerin sonucunda gebeliklerin %1-6'sında plasenta previa saptanmaktadır. Bu gebelerin önemli bir kısmı asemptomatiktir ve ilerleyen gebelik haftalarında plasenta previa kanıtları kaybolmaktadır (15). Plasenta previa kanıtlarının ileri gebelik haftalarında sebat ettiği gebelerin ise sadece %10'u asemptomatik olarak doğuma ulaşabilmektedir (31).

Plasenta previa'nın en sık görülen ve karakteristik klinik semptomu ise 2. trimester sonlarına doğru olan ağrısız vajinal kanamadır. Kanama üçüncü trimesterde da görülebilmektedir. Annede şok tablosuna neden olacak kadar yoğun kanamalar olmadığı sürece fetüsün etkilenmesi beklenmemektedir (31). İkinci trimesterden erken dönemde olan kanamalar ise fetal kayıplara neden olabilmektedir (32), (33). Ayrıca 30. gebelik haftasından önce kanama görülen gebelerde daha geç haftalarda kanama görülere kıyasla kan transfüzyonu gerekliliği, erken doğum riski ve perinatal mortalite riskinde artmaktadır (31). Kanama haftası haricinde kanamanın sıklığı da gebeliğin seyrini etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda kanama sıklığı ile kan transfüzyon ihtiyacı ve acil sezaryen ile doğum riskinin korele olduğu gösterilmiştir (34).

Kanamalar birçok nedene bağlı olarak gelişebilir. Plasentanın internal servikal os üzerinde bulunması nedeniyle internal servikal os'taki açılma sonrası plasentanın

bağlantı yerlerinde yırtılma görülebilmektedir. Alt uterin segmentteki myometrial liflerde yeterince kasılmadığı için bu bölgede vazokonstrüksiyon sağlanamamaktadır. Hastalar bu şekilde vajinal kanama ile prezente olmaktadır (11).

Plasenta previa hastalarında gestasyonel haftaya göre kanamanın ne zaman, ne sıklıkta ve ne miktarda olacağını tahmin etmek mümkün değildir. Plasentanın yerleşim yeri kanama miktarını ve zamanını etkilemektedir. Yapılan çalışmalarda servikal osu tamamen kapatan plasenta previalı gebelerde, plasentanın servikal osa yakın olduğu plasenta previalı gebelere göre daha erken haftalarda ve daha sık kanama olduğu saptanmıştır (35). Plasental kalınlığın 1 cm'den büyük olması, plasental uçta hipoekojen alanların varlığı ile servikal uzunluğun 3 cm'den küçük olması ve bu uzunluğun giderek kısalması PP'li gebelerde kanama riskini arttıran diğer faktörlerdir (36), (37).

2.8. Tanı

Plasenta previa tanısında ultrasonografi kullanılmaktadır. İkinci trimester sonunda kanama ile başvuran hastalarda plasenta previa mutlaka düşünülmelidir. Bu hastalar daha öncesinde ultrasonografi ile değerlendirilmediyse, masif bir kanamaya yol açmamak için bimanuel vajinal muayeneden kaçınılmalı ve gebe en kısa zamanda ultrasonografi ile değerlendirilmelidir (32).

On altıncı gebelik haftasından sonra bakılan ultrasonografide plasenta previa terimi kullanılabilir Ultrasonografide internal servikal os üzerinde plasentanın görülmesi ile plasenta previa tanısı konulur. Tanıda transvajinal ultrasonografinin transabdominal ultrasonografiye göre daha güvenli ve üstün olduğu gösterilmiştir (38). Leerentveld ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada plasenta previada transvajinal ultrasonografinin duyarlılığı %87,5 saptanırken özgüllüğü %98,8 saptanmış (39). Transvajinal ultrasonografide prob ile serviks arasındaki açı probun servikal kanala kaymasını engeller ve plasenta previa tanısında güvenle kullanılabilir. Ayrıca ultrasonografi plasenta previanın sınıflamasında da kullanılmaktadır. Plasentanın internal servikal os üzerinde konumuna göre sınıflama yapılır.

Gebeliğin erken haftalarında ultrasonografide saptanan plasenta previanın doğuma kadar gerileyebileceği unutulmamalıdır. Dashe ve ark. yapmış olduğu ve ultrasonografide plasenta previanın saptandığı gebelik haftası ile doğumda sebat etme oranlarının değerlendirildiği çalışmada tanı haftası daha erken olan gebeliklerde doğumda sebat etme oranlarının daha düşük olduğu saptanmıştır. Tanı haftalarına göre sebat oranları ise şu şekildeydi;

- 15-19. hafta arası tanı alanların %12'sinde plasenta previa sebat ediyordu.
- 20-23. hafta arası tanı alanların %34'ünde plasenta previa sebat ediyordu.
- 24-27. hafta arası tanı alanların %49'ünde plasenta previa sebat ediyordu.
- 28-31. hafta arası tanı alanların %62'sinde plasenta previa sebat ediyordu.
- 32-35. hafta arası tanı alanların %73'ünde plasenta previa sebat ediyordu (40).

Plasenta previa tanısında pelvik MR görüntüleme ultrasonografiden daha değerlidir. Fakat pelvik MR'ın yüksek maliyet, tetkik ulaşım zorluğu ile kullanılmamakta ve şüpheli hastalar ultrasonografi ile değerlendirilmektedir (41).

2.9. Plasenta Previa ile İlişkili Durumlar

2.9.1. Plasenta akreata spektrumu (PAS)

Plasenta akreata plasentanın desidua yerine myometriuma anormal yapışması sonucu gelişen plasental invazyon anomalilerinden biridir. Ciddi maternal ve neonatal morbidite ve mortaliteye neden olabilecek riskli bir patolojidir. Önceki çalışmalarda Plasenta previa varlığının Plasenta akreata sıklığını etkileyebildiği gösterilmiştir. Plasenta Previa ile komplike uterin cerrahi geçirmemiş gebeliklerin %1-5'inde plasenta akreata görülmektedir. Geçirilen sezaryen sayısı arttıkça plasenta akreata riski de artmaktadır (42). Plasenta previa nedeni ile sezaryen olan 723 vakalık prospektif bir çalışmada, artmış sezaryen ile PAS sıklığının arttığı gösterilmiştir (43). Bu çalışmada PAS sıklığı plasenta previalı hastalarda sezaryen ile doğumların ilkinde %3, ikincisinde %11, üçüncüsünde %40, dördüncüsünde % 61, beş veya daha fazlasında ise % 67 olarak saptanmıştır (43). Yapılan başka bir çalışmada ise PAS sıklığı plasenta previanın olmadığı hastalarda sezaryen ile doğumların ilkinde % 0,03, ikincisinde %0,2, üçüncüsünde %0,1, dördüncü veya beşincide % 0,8, altıncı veya daha fazlasında

ise % 4.7 olarak plasenta previa nedeniyle sezaryen yapılan hastalara oranla belirgin düşük saptanmıştır (44). Sonuç olarak plasenta previalı hastalarda sezaryen ile birlikte PAS görülme oranının belirgin şekilde arttığı görülmüştür.

2.9.2. Erken doğum

Plasenta previalı gebeliklerde erken doğum sıklığının arttığı önceki çalışmalarda gösterilmiştir (30), (45). Bir sistematik derleme ve meta-analiz de erken doğum riski plasenta previa totalis olgularında %43,5, plasenta previa marginalis olgularında %26,9 olarak bulunmuştur (45). Plasenta previası olan ve olmayan olgularda erken doğum oranlarının karşılaştırıldığı başka bir çalışmada ise erken doğum oranı plasenta previalı olgularda %46,5 iken plasenta previası olmayan olgularda %7,3'dü (46).

2.9.3. İntrauterin gelişme geriliği

Plasenta previa ve intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ile arasındaki ilişki net değildir. Bazı çalışmalarda Plasenta previa'lı olgularda IUGR riskinin arttığı gösterilmişken bazı çalışmalarda bu ilişki gösterilememiştir (10), (46). Rosenberg ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada IUGR sıklığı Plasenta previalı gebelerde %3,6 iken Plasenta Previası olmayan gebelerde %2,1'idi ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştu (10). Crane ve ark. yapmış olduğu başka bir çalışmada ise iki grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (46). Sonuç olarak plasenta previa ile IUGR arasındaki ilişki tartışmalıdır ve ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

2.9.4. Malprezentasyon

Plasenta previa olgularında alt uterin segmente yerleşen büyük hacimle plasenta non-sefalin prezentasyona neden olabilmektedir (47).

2.9.5. Konjenital anomaliler

Plasenta previa spesifik olarak herhangi bir konjenital anomali ile ilişkilendirilmemiştir fakat plasenta previa olgularında eşlik konjenital anomali varlığında artış olduğu gösterilmiştir (46).

2.9.6. Amniyotik sıvı embolisi

Plasenta previa ile amniyotik sıvı embolisi arasında güçlü bir ilişki olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Abenhaim ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada plasenta previa varlığının amniyotik sıvı embolisi riskini 30 kat arttırdığı bildirilmiştir (48).

2.9.7. Umblikal kord anomalileri

Vasküler anomalilerin görülme ihtimali düşük olmakla beraber varlığında Plasenta previa ile ilişkili olabilirler. Vasa previa ve velamentöz umblikal kord insersiyonunun varlığı plasenta previa ile ilişkilendirilmiştir. Plasenta previa varlığının vasa previa riskini 22.8 kat attırdığı gösterilmiştir (49, 50). Ebbing ve arkadaşları da yapmış oldukları bir çalışmada plasenta previa varlığının diğer bir umblikal kord anomalisi olan marjinal kord insersiyonu riskini 1,2 arttırdığı göstermiştir (3).

2.9.7. Yönetim

Plasenta previa olgularının yönetimi hastaların klinik özelliklerine göre bireyselleştirilmelidir. Bu hastaların rutin takipleri sırasında doğum zamanlamasının planlanmasının yapılması ve doğum öncesi plasenta previa yönetiminde deneyimli bir ekip organize edilmelidir. Ayrıca hastalar plasenta previa hakkında bilgilendirmeli ve ağrı, kanama gibi acil müdahale gerektirebilecek durumlarda hastaneye başvurmaları gerektiği anlatılmalıdır. Tedavi kararı hastaların klinik özelliklerine göre verilmektedir. Hastalar klinik özelliklerine göz önüne alınarak 3 gruba ayrılabilir (51).

- Asemptomatik olan hastalar
- Aktif kanaması olan hastalar
- Kanama atağı sonrası stabil olan hastalar

2.9.7.1. Asemptomatik plasenta previada yönetim

Asemptomatik plasenta previa olgularının yönetiminin amaçları arasında ilerleyen gebelik haftalarında plasenta previa halinin devam edip etmediğinin belirlenmesi, kanama ve erken doğum riskinin azaltılması yer almaktadır. Plasenta previanın

devamlılığının değerlendirilmesi için hastaların takiplerinde 28. haftadan sonra aylık kontroller ile plasentanın servikal os ile ilişkisi ultrasonografi ile değerlendirilmelidir. Bu takipler sırasında plasental kenarın internal servikal osa uzaklığı 2 cm'nin üzerinde saptanırsa plasenta yerleşimi normal olarak kabul edilir. 36. haftadaki ultrasonografi kontrolünde plasental kenar internal servikal osun üzerinde ise sezaryen ile doğum planlanmalıdır. Bu görüntülemelerde plasental kenar internal servikal osa 2 cm'den daha yakın fakat servikal os üzerinde değilse hasta normal doğum hakkında kanama riski gibi olası riskler açısından bilgilendirilmelidir. Doğum şekline hasta ile birlikte karar verilmelidir. Bu takipler sırasında hasta vasa previa açısından da renkli doppler ultrasonografi ile değerlendirilmelidir. Plasental kenarın internal servikal osa olan mesafesi azaldıkça ve vasa previa varlığında kanama riskinin artacağı göz önünde bulundurularak uygun doğum şekline karar verilmelidir (52).

Asemptomatik plasenta previalı olgularda kanama riskini azaltmak amacıyla vajinal tuşeden kaçınılmalı ve koitus yasaklanmalıdır. Ayrıca kesin olarak kanıtlanmış olmasa da fiziksel aktiviteden, uzun sürede ayakta kalmaktan ve ağır kaldırmaktan kaçınılmalıdır (51).

Plasenta previa olgularında IUGR sıklığında artış olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiş (53). Bu hastaların takipleri sırasında fetal gelişme geriliğinin ultrason ile seri takiplerini destekleyen çalışmalar bulunmamaktadır fakat bu hastalarda artan IUGR riski plasenta değerlendirilirken her zaman akılda tutulmalıdır.

Asemptomatik Plasenta previa hastalarının izlemlerinin ayaktan veya yatarak yapılması tartışmalıdır. Love ark. yapmış olduğu 15930 hastanın incelendiği bir derlemede doğum öncesi bulgularla sonuçların tespit edilemeyeceği, kanama haline bakılmasızın hastaların çoğunluğunun evden takip edilebileceği bildirilmiştir (54). Benzer şekilde başka bir çalışmada da hastaların takip şeklinin maternal ve fetal mortalite oranlarını etkilemediği gösterilmiştir (31). Lam ve ark. ise yaptıkları bir çalışmada antepartum kanaması olan hastalarda hospitalizasyon önermektedir (53).

2.9.7.2. Semptomatik plasenta previada yönetim

Plasenta previa olgularında vajinal kanama en sık görülen semptomdur ve obstetrik acillerden birisidir. Kanama ile başvuran olgularda ilk olarak hemodinami değerlendirilmelidir. Hemodinamisi bozuk olan hastalarda hipovolemik şok tablosu düşünülmeli ve hızlı bir şekilde müdahaleye başlanmalıdır. Hemodinamik stabilizasyonu sağlanmak için her iki koldan damar yolu açılarak kristaloid sıvı infüzyonu başlanmalı ve mesane sonda takılarak saatlik idrar çıkışı takip edilmelidir. Kan transfüzyonu ihtiyacının değerlendirilmesi ve gereklilik halinde kan transfüzyonunun yapılabilmesi için tam kan sayımı ve kan grubu bakılmalıdır. Hemogloblin düzeyi 10 gr/dl'nin altına iniyse veya kan kaybı kan volümünün %30'ununda fazlaysa kan transfüzyonu önerilmektedir. Hastanın vital bulguları ve idrar çıkışı gibi hemodinamik göstergeleri de kan transfüzyon ihtiyacının değerlendirmesinde kullanılan diğer parametrelerdir (51). Acil operasyon planlanmıyorsa, hasta stabil olana ve hemogloblin düzeyi 10 gr/dl'nin üzerine çıkana kadar kan transfüzyonuna devam edilebilir. Bununla birlikte eğer doğum planlanıyorsa 8 gr/dl üzerinde hemogloblin düzeyi yeterli olacaktır (15). Traneksamik asit plasentayı serbestçe geçebildiği için doğum öncesi uygulanmaz fakat kalıtsal kanama bozukluğunun varlığı halinde antepartum ve intrapartum kanamanın tedavisi için önerilmektedir (15). Tokolitik ajanların kullanılması da bu hastalarda kontraendikedir.

Plasenta dekolmanı şüphesi varsa veya masif kan transfüzyonu yapılmışsa olası dissemine intravasküler koagülopati açısından fibrinojen, protrombin zamanı ve aktive parsiyel tromboplastin zamanı çalışılmalıdır. Gereklilik halinde kriyopresipitat ve taze donmuş plazma tedaviye eklenmelidir.

Kanamanın yönetimi sırasında non-stress test (NST) ile fetüs takibi de yapılmalıdır. NST'de fetal taşikardi, reaktivite kaybı gibi fetal hipoksi ve anemi düşündürecek modeller izlendiğinde hasta doğum açısından değerlendirilmelidir (40).

Kanama ile başvuran plasenta previalı birçok hastada destekleyici tedavi ile semptomlar gerilemektedir ve hemen doğum gerektirmez (17). Diğer taraftan hastanın yapılan müdahalelere rağmen hemodinamik stabilizasyonu sağlanamadıysa, doğum

eylemi başladıysa veya hemodinamik stabilizasyonu sağlamak için sürenin yeterli olmaması halinde doğum planlanmalıdır. Doğum sezaryen ile gerçekleştirilmelidir. Hasta hemodinamik açıdan stabil değilse ya da fetal durumda bozukluk varsa genel anestezi tercih edilmelidir. Hasta ve fetal durum stabilsen rejyonel anestezi tercih edilebilir (51). Doğum kararı verildikten sonra izlenecek yol vakaya göre bireyselleştirilmelidir. 34. gebelik haftası sonrasında kanaması olan ve doğum kararı verilen plasenta previalı gebelerde kortikosteroid tedavisi için doğum ertelenmemelidir (55). Yine bu hastalarda 34. gebelik haftasından önce doğum kararı verildiyse ve 24 saat içinde doğum planlanıyorsa nöroprotektif etki açısından magnezyum sülfat tedavisi doğumu geciktirmemek şartıyla verilebilir.

2.9.7.3. Kanama atağı sonrasında konservatif yönetim

Plasenta previalı hastaların büyük bir kısmında kanama atağı destekleyici tedaviyle gerilemektedir (55). Kanama ile başvuran hastaların en az %50'si 4 hafta içinde doğum yapmamıştır (55). Özellikle 34 haftadan küçük gebeliklerde kanama kontrolü ile birlikte anne ve fetus stabil hale getirildiyse, fetüsün gelişimini tamamlaması amacıyla hasta doğuma alınmadan takip edilebilir. Kanaması tekrar etmeyen veya minimum kanaması olan plasenta previalı hastaların 36+0 ile 37+6 haftaları arasında planlı olarak sezaryen ile doğum gerçekleştirilmelidir (28).

Kanama atağı sırasında gelişen problemlerden biri de anemidir. Aneminin düzeltilmesi amacıyla oral veya parenteral demir replasmanı başlanabilir. Bu hastalarda GIS yan etkilerinin olmaması ve hemoglobin düzeylerinde daha hızlı yükselme sağlanması nedeniyle parenteral demir tedavisi tercih edilebilir (28).

Kanama sonrası ortaya çıkabilen diğer bir problemde RhD alloimmunizasyonudur. Fetomaternal plasental arayüzün bozulması fetomaternal kanamaya ve RhD alloimmunizasyonuna neden olabilir. Kılavuzlar bu durumun önlenmesi amacıyla plasenta previa kanaması olan Rh (-) hastalara anti-D immunglobulin verilmesini önermektedir (28). Anti-D immunglobulin uygulaması sonrası ilk 3 hafta içinde kanamanın tekrar etmesi halinde uygulama tekrar gerekmez. Sonraki dönemlerde kanamanın tekrar etmesi halinde anti-D antikor titresi kontrol edilebilir. Anti-D antikor

titresi düşük saptanırsa, alloimmunizasyona karşı devam eden bir koruma sağlamak için anti-D immunglobulin tekrar uygulanabilir (28).

2.10. Kisspeptinler

KISS1 ilk olarak metastin olarak isimlendirilmiştir. Bunun nedeni, melanoma hücre hatlarında kisspeptinin metastas baskılayıcı etki göstermiş olmasıdır (13) (56). KISS1 ve bu proteinin reseptörü olan KISS1R'nin insan plasentasında ifade edildiğini ve non-invazif dönem plasentaya (39-41. haftalar) kıyasla yüksek düzeyde invazif gelişim gösteren erken dönem (7-9. haftalar) plasentasında bu genlerin ekspresyonlarının çok daha yüksek olduğu qRT-PCR yöntemi ile doğrulamıştır. Bu bulgu, sağlıklı gebeliklerde KISS1 ve KISS1R'nin trofoblast hücrelerinin invazif ve göç edici özelliklerini inhibe ettiği ve dolayısıyla plasenta bazlı kisspeptin sinyalizasyon sisteminin insan plasentasının düzenlenmesinde önemli bir rolü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu durum, KISS1'in metastaz baskılayıcı özelliği ile uyumlu bir etkidir. KISS1 ve KISS1R'nin gebeliğin erken döneminde normalin çok yüksek seviyelerinde eksprese edildiği gözlemlenirken, gebeliğin sonuna doğru kademeli olarak azaldığı tespit edilmiştir (56). Preeklampsi hastalarında KISS1 ve KISS1R ifade düzeylerinin hem protein hem de gen düzeyinde incelendiği bir çalışmada, KISS1 ifadesinin preeklampsi hastalarında belirgin bir şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. İlginç bir şekilde KISS1R'nin ise preeklampsi hastalarında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum, KISS1R'nin preeklampsili hastalarda trofoblast invazyonunun ve anjiyogenezin inhibisyonunda rol alabileceği yönünde değerlendirilmiştir (4). Farelerde endometriyal dokularda yapılan bir çalışmada, kisspeptin gebeliğin dördüncü gününde uterustaki p38 ve ERK1/2'nin fosforilasyonunu tetikleyebileceği gösterilmiştir (57). Bu durum KISS1'in farelerde endometriyumun işlevini etkileyebileceğini düşündürmüştür. Başka bir çalışmada ise, ovaryumları alınmış fare endometriyumunda stromal hücre desidualizasyonunun ilerlemesi ile kademeli olarak Kiss1 ve Kiss1r mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (58). Ayrıca, Kiss1 ekspresyonu siRNA'lar tarafından zayıflatıldığında, stromal hücre desidualizasyonunun ilerlemesinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (58). Bu çalışmalara ek olarak, KISS1 uygulamasının muhtemelen ERK1/2 ve protein kinaz C yoluyla MMP aktivitesinin azaltılmasıyla, kollajen-blastosist etkileşiminin artmış

olabileceği öne sürülmüştür (58). Bu çalışmalar, KISS1'in embriyo implantasyon sürecini kolaylaştırmak için hem blastosist hem de endometriyumda etki gösterdiğini ortaya koymuştur.

Kisspeptinin trofoblastlar tarafından üretildiği bilinmektedir. Trofoblastların invazyona başlamasıyla birlikte (59), peri-implantasyon periyodundaki plazma kisspeptin konsantrasyonları, gebeliğin sonucu ile ilişkili erken gelişimsel olayları yansıtabilir. Sinsitiyotrofoblastın uterin spiral arterlere invazyonu, gelişmekte olan plasenta ve fetüs için en önemli anlardan biridir. Yeterli düzeyde invazyon, büyüyen fetüs için uygun bir kan akışı, besin ve oksijen kaynağı sağlar, ancak olası bir düzensizlik gebelik komplikasyonlarına neden olabilir (60). İnsanlarda, KISS1 plazma konsantrasyonu, hamilelik süresince belirgin bir şekilde artış gösterir. İlk trimesterde 900 kat, üçüncü trimesterde hamile olmayan kadınlara kıyasla 7000 katın üzerine çıkar (60). Gebelik süresince trofoblast hücre sayısındaki artışın, plazma KISS1 düzeylerindeki belirgin artışın sorumlusu olması muhtemeldir. KISS1'in plasenta gelişimi ile bu kadar yakından ilişkili olması, plasenta gelişimi ile ilişkili olası problemlerde de etkin rolü olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde plasenta gelişimi ve özellikle preeklampsi ile ilişkili birçok çalışmanın yürütüldüğü ve plasenta gelişimi ile ilgili önem arz eden sonuçların alındığı görülmektedir. Fakat, plasenta previa ile ilişkilendirilebilecek bir bulguya henüz bilgimiz dahilinde rastlanmamıştır.

Kiss-1 geni 145 peptit yapıları amino asitten oluşur ve insan kromozomunda 1q32 üzerinde bulunur (66). Kiss-1 proteininden 4 ayrı kisspeptin oluşur bunlar; kisspeptin-54, kisspeptin-14, kisspeptin-13 ve kisspeptin-10 (23). Kisspeptinler arasında fizyolojik etkisi en güçlü olan ve doğal olarak meydana gelen kisspeptin parçasının Kisspeptin-10 olduğu varsayılmaktadır (68, 71). En çok bulunan tipi ise kisspeptin-54'tür (67). Kisspeptin nöronlarının hipotalamusta dağılımı gösteren bölgeleri arkuat nucleus (ARC)'de kaudal bir alan ve preoptik alan (POA)'da rostral bir kısımdır. Preoptik alanda ki rostral kısmın karşılığı kemirgenlerde anteroventral periventriküler nükleus (AVPV)'dedir. İnsanlarda ve koyunlarda ARC'de AVPV'ye oranla daha fazla kisspeptin nöronları bulunur (73, 74).



3. HASTALAR VE YÖNTEM

Bu araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş olup, kurulun 12/11/2021 tarih ve OMÜ KAEK 2021/481 nolu kararı ile araştırmanın yürütülmesinin uygun olacağına karar verilmiş ve hastalara verilecek olan onam formları hazırlanmıştır. Araştırma için örnekler toplanmadan önce hastalara araştırmanın amacı tam olarak açıklanmış, hastalardan veya hasta yakınlarından bilgilendirilmiş yazılı rıza alınmıştır. PP tanısı olan hastalar ve PP tanısı olmayan gebe kadınlar çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

3.1. Olguların Çalışmaya Dahil Edilmesi, Rutin Takip Protokollerinin

Gerçekleştirilmesi

Çalışmanın planlanmasında güç analizi gerçekleştirilmiş olup, 40 gönüllü kadın hastanın çalışmaya katılımının yeterli olduğu görülmüştür. Projenin yürütülmesi süresince hastalar çalışmaya katılır katılmaz, deneysel işlemler her hasta için ayrı ayrı başlatıldı.

Temmuz 2021-Kasım 2021 yılları arasında Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümüne plasenta previa nedeniyle başvuran veya plasenta previa tanısı konan ve dahil edilme kriterlerine uyan tüm gebe kadınlar deney grubu olarak çalışmaya dahil edilecektir. Kontrol grubuna ise, herhangi bir plasental anomali gözlenmeyen ve sağlıklı doğum gerçekleştiren gebeler dahil edilecektir.

Çalışmada göz önünde bulundurulacak olan dahil etme kriterleri şunlardır;

- Klinik muayenede plasenta previa saptanması
- 18-45 yaş arasında olmak

Dahil etmeme kriterleri ise;

- Ek hastalık bulunması
- Çoğul gebelik varlığı
- Fetal anomalinin varlığı
- Preeklampsi varlığı

Çalışmaya dahil edilen olguların klinik muayeneleri gerçekleştirildi. Bu kapsamda, OMÜ Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalına ağrısız vajinal kanama şikâyeti ile başvuran kadın hastalarda, rutin klinik muayeneler kapsamında transabdomen ve transvaginal ultrasonografi gerçekleştirildi. Klinik muayene için el ile tuşe yaklaşımı sergilenmedi. Olası bir kanama ihtimaline karşı klinik muayene dikkatle gerçekleştirildi. Olası bir plasenta previa gelişimi şüphesi olursa, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) yöntemi ile servikste plasenta yerleşimi konfirme edilerek hastalık tanısı kesinleştirildi. Plasenta previa tanısı alan hastaların 3 hafta arayla klinik takibi gerçekleştirildi. Plasenta previa tanısı konmasını takiben rutin kontrollerde olgulardan lityum heparinli ve EDTA'lı tüplere 1 cc kan alma işlemi gerçekleştirildi.

3.2. Olgulara Ait Plazma ve Plasenta Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Klinik takibe alınan tüm hastalardan kan örnekleri toplandı. Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi için lityum heparinli tüplere 1 cc, genetik analizlerin gerçekleştirilmesi için EDTA'lı tüplere 1 cc kan alındı. Kan alma işlemi takiben kan tüpleri buz akülerine sarılacak ve vakit kaybetmeden soğutmalı santrifüjde 500 g'de 5 dakika santrifüje edildi. Kırmızı kan hücrelerinin çökmesini takiben plazmalar ayrı ayrı eppendorf tüplere kodlanarak aktarıldı. Biyokimyasal ve genetik analizler için izole edilen plazmalar çalışma gününe kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

Gebelerin 3'er hafta arayla rutin muayeneye gelmeleri istendi. Bu kapsamda, ikinci trimesterde plasenta previa tanısı konan hastalardan gebeliğin sonlanmasına kadar 3'er hafta arayla kan örnekleri alındı ve yukarı açıklandığı şekilde uygun koşullarda saklamak üzere işleme tabi tutuldu. Çalışmaya katılan gebelerin doğumu gerçekleştirmesi sonrası, plasenta dokusu çıkartıldı. Çıkartılan plasentadan göbek bağı çıkışında, plasenta yüzeyine paralel olacak şekilde 4 yönde ve göbek bağına eşit uzaklıkta olmak üzere sistematik rastgele örnekleme ile tüm kalınlık boyunca doku parçaları alındı. Alınan parçaların bir kısmı genetik analizler için serum fizyolojik içerisine alınarak çalışma gününe kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı. Diğer bir kısmı ise histolojik analizler için %4'lük formaldehit bulunan kaplara transfer edildi.

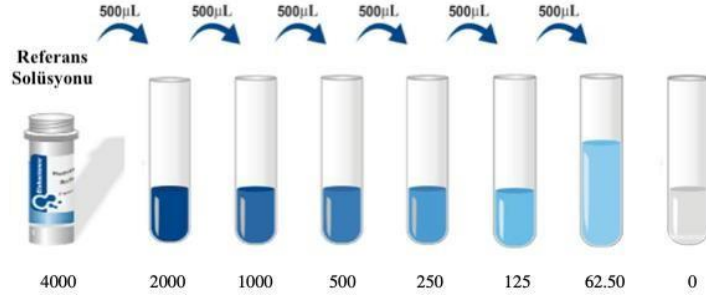
3.3. Plazmada KISS1 Düzeyinin ELISA Yöntemi ile Ölçülmesi

Plazma örneklerinde biyokimyasal olarak KISS1 analizi, ticari kit yardımıyla competitive-ELISA yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Ticari kit yardımıyla insan plazma 100 µl örnek hacmi ile 62,5-4000 pg/ml aralığında KISS1 protein miktarının konsantrasyonunun ölçülmesi sağlandı. Konsantrasyon ile doğru orantılı olarak renk reaksiyonu prensibine göre 450 nm'de spektrofotometrik ölçüm gerçekleştirildi. Pilot çalışma ile plazma örneklerinin dilüasyon oranları tespit edildi ve daha sonra tüm örnekler teste tabi tutuldu.

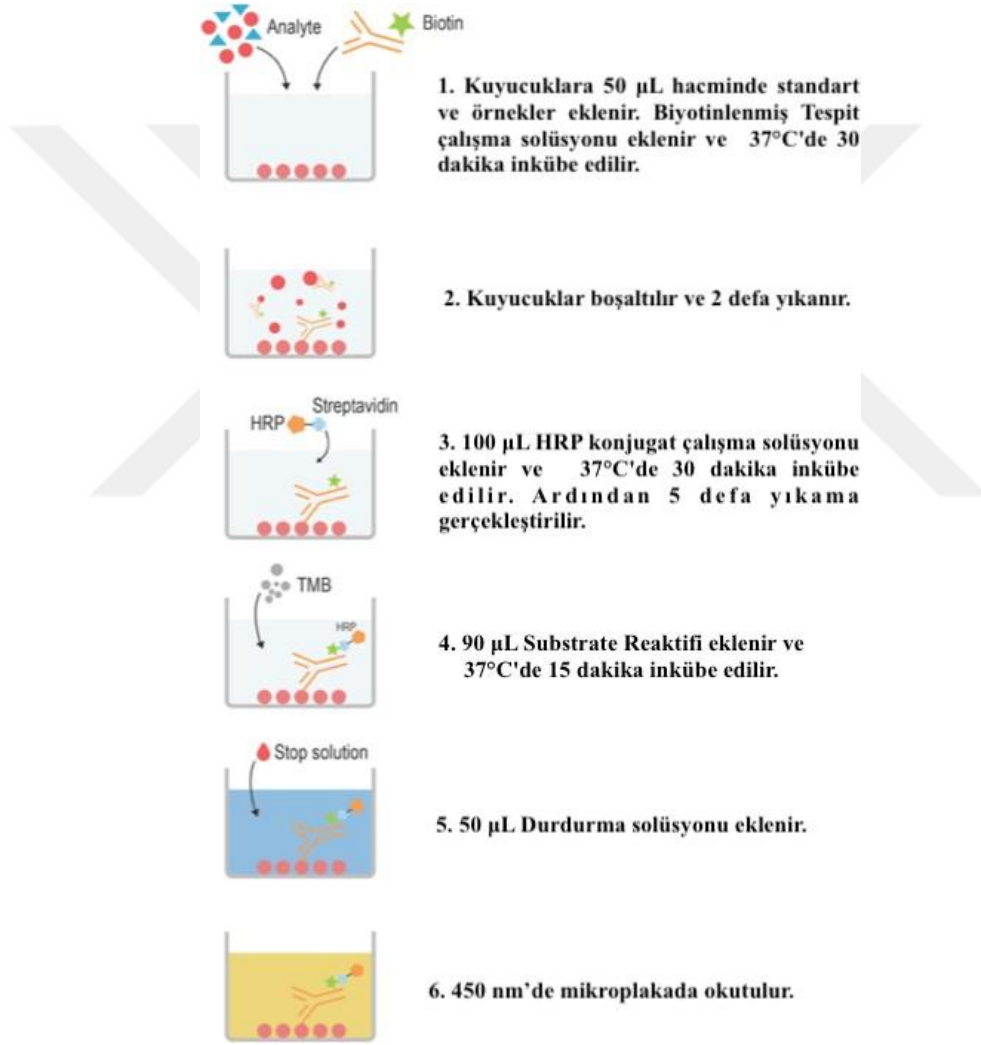
3.4. Reaktiflerin Hazırlanması

Tüm reaktifler, çalışmaya başlamadan oda sıcaklığına (18-25°C) getirildi. 750 mL Yıkama Tampon solüsyonu hazırlamak için, 30 mL Konsantre Yıkama Tampon solüsyonu 720 mL distile su ile karıştırıldı. Standart çalışma solüsyonu hazırlamak için, standart 10.000×g'de 1 dakika santrifüjlendi. 1.0 mL Referans Standardı ve Örnek Seyreltici eklenerek, 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu sulandırma, 4000 pg/mL'lik bir çalışma solüsyonu hazırlamak için yapıldı. Ardından örnekler, 4000, 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.50, 0 pg/mL olacak şekilde seyreltildi (Şekil 1).

Biyotinlenmiş Saptama Ab çalışma solüsyonu hazırlamak için, Konsantre Biyotinlenmiş Saptama Ab solüsyonu 800×g'de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Ardından 100× Konsantre Biyotinlenmiş Saptama Ab solüsyonu, Biyotinlenmiş Saptama Ab Seyreltici solüsyonu ile 1x çalışma solüsyonuna seyreltildi. Konsantre HRP Konjugat çalışma solüsyonu hazırlamak için, Konsantre HRP Konjugatını 800×g'de 1 dakika boyunca santrifüjlendi. Ardından 100× Konsantre HRP Konjugatını, HRP Konjugat Seyreltici ile 1x çalışma solüsyonuna seyreltildi.



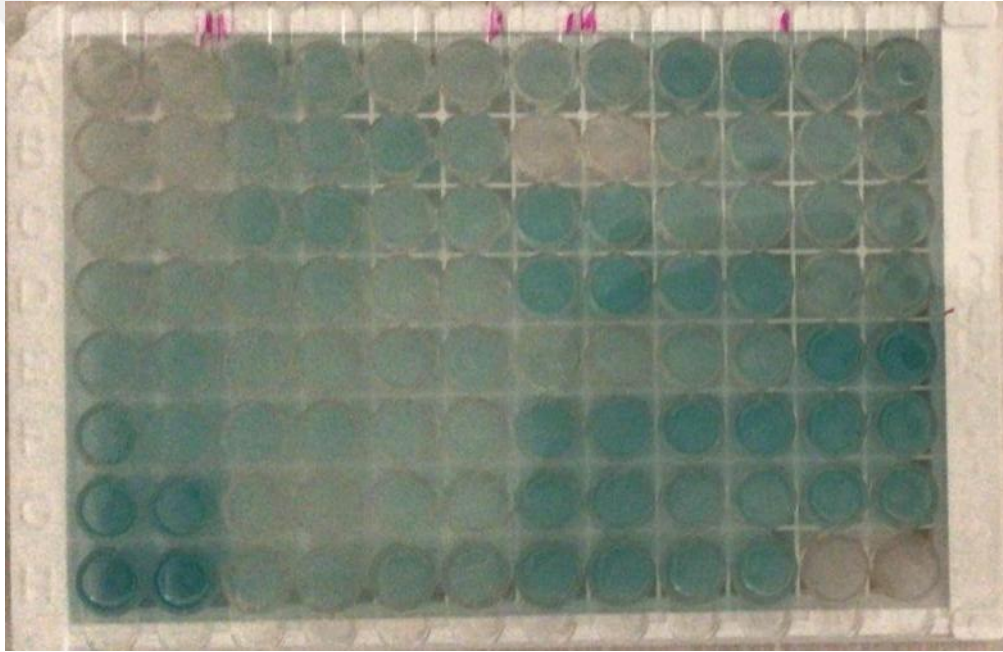
Şekil 1. Referans solüsyonlarının hazırlanması



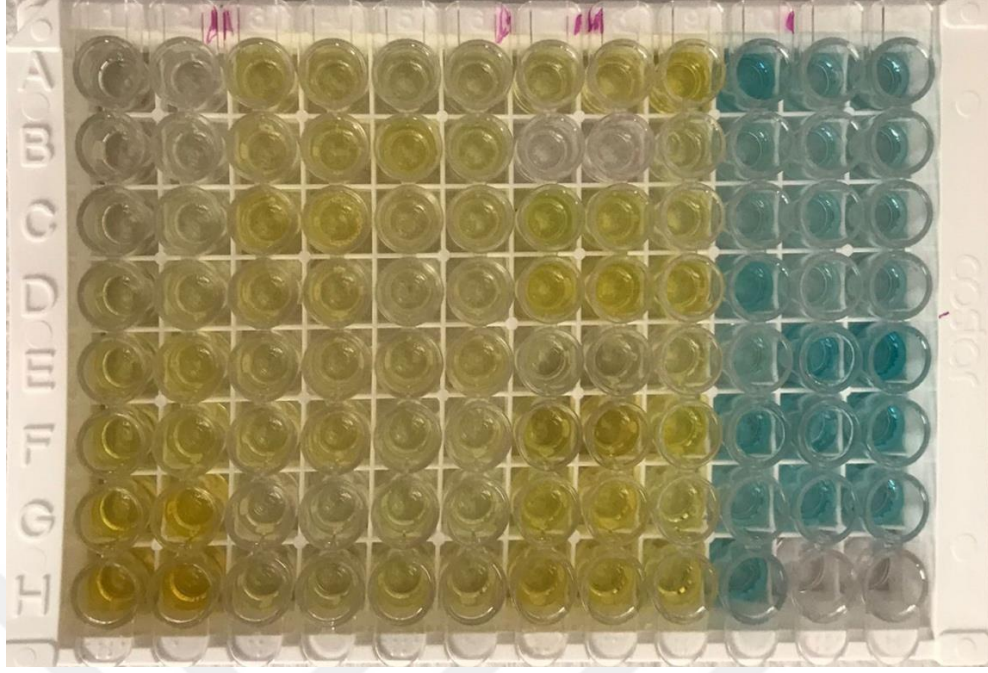
Şekil 2. ELISA protokolünün gösterimi

Seyreltilmiş standart, blank ve numuneler için kuyucuklar tespit edildi. Uygun kuyucuklara standart, blank ve numune duplike olacak şekilde 50 µL hacminde eklendi. Ardından, her kuyucuğa hemen 50 µL Biotinlenmiş Saptama Ab çalışma

solüsyonu eklendi. Örnekler, 37°C'de 45 dakika inkübe edildi. Bütün kuyuculardaki çözeltiler boşaltıldı ve her kuyucuğa 350 µL yıkama tamponu eklendi. 1 dakika beklendi ve kuyucuklardan yıkama solüsyonu boşaltıldı. Plate temiz emici kağıda hafifçe ters çevirilerek iyice boşaltıldı. Bu yıkama adımını üç kez tekrarlandı. Ardından her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklendi. Plate, 37°C'de 30 dakika inkübe edildi ve yıkama işlemi beş kere tekrar edildi (Şekil 2). Ardından, her kuyucuğa 90 µL Substrate Reaktifi eklendi ve 37°C'de 15 dakika süreyle inkübe edildi (Şekil 3). Son olarak her kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu eklendi (Şekil 4). 450 nm'ye ayarlanmış bir mikro plaka okuyucu ile her bir kuyunun optik yoğunluğunu (OD değeri) tespit edildi.



Şekil 3. Substrat reaktifi eklendikten sonra kuyucuklarda konsantrasyona göre renk değişimi gözlenmesinin gösterimi



Şekil 4. Durdurma solüsyonu eklendikten sonra kuyucuklardaki renk değişiminin gösterimi

3.5. Plazma ve Plasenta Örneklerinden Total RNA İzolasyonu, cDna Eldesi ve qRT-PCR Analizi

3.5.1. Total RNA izolasyonu ve konsantrasyon tayini

Rutin aralıklarla tüm olgulardan alınan plazma ve plasenta örneklerinden total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu kapsamda, tüm plazma örnekleri 1000 g'de 5 dakika santrifüje edildi. -80°C'de saklanan plasenta örnekleri ise sıvı azot ile porselen sahanda dövülerek fiziksel parçalama gerçekleştirildi.

Elde edilen özütler TRIZOL ile muamele edilerek total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Bu kapsamda izlenecek protokol aşağıdaki gibidir.

- 2000 µl hacmindeki örnek özütü için beş kat hacim düzeyinde TRIZOL eklendi
- 1 dk. boyunca en yüksek devirde vorteks yapıldı
- 20 dk. oda ısısında bekletildi (2-3 dk.'da bir vorteks yapıldı)
- Ardından kloroform eklendi
- 1 dk. boyunca en yüksek devirde vorteks yapıldı
- 3 dk. oda ısısında faz oluşması

- 10.000 g'de 10 dk. +4°C'de santrifüj yapıldı
- 3 faz oluşacak (renkli, krem rengi ve şeffaf). En üstteki şeffaf faz yeni bir tüpe aktarıldı. (Yaklaşık 300 µl)
- Yeni tüpe 2-propanol alkol eklendi
- 10 dk. oda ısısında bekletildi
- 10.000 g'de 10 dk. +4°C'de santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı
- Çökelti, %75'lik etanol ile çözdürülerek elle karıştırıldı
- 10.000 g'de 5 dk. +4°C'de santrifüj yapıldı. Süpernatant atıldı.
- Alkolün uzaklaşması için 15 dk. oda ısısında bekletildi.
- 200 µl steril dH₂O eklenerek çökelti çözdürüldü

Total RNA konsantrasyonu, spektrofotometrik yöntem kullanılarak nanodrop 2000 (Thermo Scientific) ile tespit edildi. Düşük düzeyde konsantrasyon gösteren ve kirlilik düzeyi yüksek olan numuneler yeniden çalışıldı. İzolasyonu tamamlanan total RNA'lar uygun oranlarda seyreltildi ve çalışmanın yapılacağı güne kadar -80°C'de muhafaza edildi.

3.5.2. cDNA eldesi

Tüm örnekler için izolasyon işlemleri tamamlandı, mRNA'dan tamamlayıcı (complimentary) DNA zincirinin sentezi gerçekleştirildi. Bu noktada ticari olarak satışı sunulan ticari kitler kullanıldı. İlk olarak muhtemel genomik DNA parçalarının uzaklaştırılması gerçekleştirildi. Ardından, reaksiyon tüpünün içersine dNTP'ler, reaksiyon tampon bileşenleri ve reverse transkriptaz enzimi eklendi. Konvansiyonel polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) cihazı yardımı ile kitin önerdiği protokol çerçevesinde cDNA sentezi gerçekleştirildi ve yüksek sıcaklıkta mRNA'lar degradasyonu sağlandı.

3.5.3. qRT-PCR analizi

NCBI primer BLAST programı kullanılarak *GAPDH*, *KISS1* ve *KISS1R* genlerine ait primerlerin dizaynı gerçekleştirildi. *GAPDH* (housekeeping gen) iç kontrol geni olarak kullanıldı. Primerlere ait baz dizisi ve diğer bilgiler Tablo 2'de paylaşılmaktadır.

Tablo 2. Çalışma kapsamında kullanılacak olan primerlere ait genel bilgiler

Hedef gen	GenBank kodu	Yön	Primer dizilimi (5'-3')	Tm (°C)	Aplikon
<i>KISS1</i>	NM_002256.4	F	CCACCTCTGGACATTCACC	61	148
		R	GCTGCCAAGAAACCAGTGAG	59	
<i>KISS1R</i>	NM_032551.5	F	CCCCTCTCTCTGAGCGGACC	63	163
		R	CACAACGAAACTGCACCGAAC	60	
<i>GAPDH</i>	NM_002046.7	F	TCGGAGTCAACGGATTTGGT	57	181
		R	TTCCCGTTCTCAGCCTTGAC	59	

Çalışma başlangıcında optimizasyon amacıyla pilot çalışma yapıldı. Primerlerin etkinliğini kontrol etmek amacıyla her primer çifti için PCR Master Mix (2X) (K0171, Thermo Scientific™, Almanya) ile PCR yapılarak bantlar agaroz jel üzerinde kontrol edildi (Tablo 3, 4). Çalışmamızda, KİTAM, OMÜ bünyesinde bulunan Bio-Rad qRT-PCR cihazı kullanıldı.

Tablo 3. PCR hazırlık protokolü

Reaksiyon	Hacim
PCR karışımı (2x)	20 µl
İleri primer	2 µl
Geri primer	2 µl
cDNA	6 µl
RNaz/DNaz'sız su	20 µl
Toplam hacim	50 µl

Örnek yoğunluğunun ve primer bağlanma sıcaklıklarının tespiti ardından, optimize edilmiş protokol takip edilerek reaksiyonlar buz üzerinde hazırlandı (Tablo 5, 6). Gen ifade analizinde kullandığımız kıyaslama yönteminde, reaksiyon başlangıcındaki örnek miktarının her olgu için standardize edilmesi önem gösterildi.

Tablo 4. PCR döngü koşulları

Uygulamalar	Zaman	Sıcaklık	Döngü
Enzim aktive edilişi	15 dak.	95°C	1
Ayrıştırma	60 sn.	96°C	
Primer eklenmesi	60 sn.	Tm	40
Dizi uzaması	90 sn.	74°C	
Erime süreci	10 dk.	74°C	1

Tablo 5. qRT-PCR reaksiyon hazırlanması

Reaksiyon bileşenleri	Hacim
SYBR Green PCR Karışımı	20 µl
İleri primer	3 µl
Geri primer	3 µl
cDNA	4 µl
RNaz'sız su	20 µl
Toplam hacim	50 µl

Tablo 6. qRT-PCR döngü koşulları

Uygulamalar	Zaman	Sıcaklık	Döngü
Enzim aktive edilmesi	25 dak.	95°C	
Ayrıştırma	30 sn.	96°C	
Primer eklenmesi	60 sn.	65°C	40
Dizi uzaması	90 sn.	72°C	
Erime süreci	Her derecede 25 ölçüm	70-95°C	

qRT-PCR reaksiyonu gerçekleştirildikten sonra, genlere ait Ct değerleri tespit edildi. Eksponensiyel fazda, PCR sonucu ortaya çıkan ürünün anlamlı artışının gözlemlendiği ilk döngü görüntülenir. Bu görüntüde tespit edilen seviye, genel olarak başlangıç örneğindeki gen ifade düzeyi ile doğru orantılıdır. Eksponensiyel fazda tespit edilen Ct değerleri alınarak, istatistiksel analiz için kayıt edildi. *GAPDH* genine ait Ct değerleri kontrol geni olduğu için referans Ct değeri olarak alındı ve gen ifade düzeylerinin normalizasyonunda kullanıldı. Gen ifade düzeylerinin normalizasyonu delta-delta Ct metodu ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) uygulanarak yapıldı.

3.6. Plasenta Örneklerinin Rutin Histolojik Takibi, Dokuların Parafine

Gömülmesi ve Uygun Kalınlık ve Aralıkta Kesit Alımı

3.6.1. Dokuların fikse edilmesi

Gebenin doğumu esnasında cerrahi işlem ile diseke edilen plasenta dokusu, bütün olarak %4'lük formaldehit solüsyonu bulunan büyük bir kaba aktarılarak dokunun fikse olması sağlandı. Fiksasyonun başlıca amaçları, otolizin ve bakteriyal hasarın önlenmesi, doku ve organların şekil ve hacim açısından canlıdaki yapısının korunması, dokunun boyama işlemlerine elverişli hale getirilmesidir. Fiksasyon işlemi takiben, dokunun göbek bağı çıkış noktası merkezi alınarak 2 cm mesafeyle yüzeyin 4 farklı yönünde, fetal yüzden desiduaya doğru yaklaşık 3 cm. kalınlığında doku parçaları diseke edildi.

3.6.2. Rutin histolojik işlemleri

Dokular tespit solüsyonundan çıkartılarak bir gece akar suda yıkandı. Daha sonra dokulara Tablo 6'da belirtilen sıra ile doku takip işlemleri uygulandı. Dokuların mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmesi amacı ile yapılan doku takip işlemi 3 aşamadan oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla; dehidrasyon, şeffaflandırma ve sertleştirme basamaklarıdır. Dehidratasyon aşamasında doku suyunun uzaklaştırılması amacıyla dereceli alkol serileri kullanıldı. Şeffaflandırma aşamasında, dokunun infiltrasyon aşamasına hazırlanması için dehidran (alkol) maddeni ksilen kullanımı ile uzaklaştırılması gerçekleştirildi. Sertleştirme aşamasında ise, dokuların mikrotom ile kesilebilmesi için sertleştirilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda, dokudaki ksilenin uzaklaştırılması için parafin uygulanacak ve dokudaki boşluklar doldurularak kalıcı sertlik sağlandı. Bu şekilde dokulardan kesit alınması mümkün olabilecektir.

İŞLEM	DOKU MATERYALİ	TAKİP	SÜRE
--------------	---------------------------	--------------	-------------

SUYUN UZAKLAŞTIRILMASI	%70'lik etanol	120 dakika
	%80'lik etanol	60 dakika
	%96'lık etanol	2 x 120 dakika
	%100'lük etanol	2 x 60 dakika
ŞEFFAFLANDIRMA	Ksilen	2 x 30 dakika
STABİLİZE ETME	Parafin (sıvı)	60 dakika
	Parafin (oda ısı)	12 saat
	Parafin (sıvı)	2 x 60 dakika

3.6.3. Kesit alma işlemi

Dokular parafine gömülerek, parafin blokları hazırlandı. Parafin bloklar 5 µm kalınlığında rotary mikrotom (Leica RM212RT) kullanılarak kesilecek ve alınan kesitler içerisinde sıcak su bulunduran benmariye alınarak açılması sağlanacaktır. Pürüzsüz bir hale gelen kesitler rodajlı lam üzerine alınacaktır. Hazırlanan ince kesitler ~60°C'lik sıcaklıktaki etüvde 3 saat bekletilerek dokudan parafinin uzaklaştırılması ve kesitlerin lama kuvvetli bir biçimde yapışmaları sağlandı. Etüvden çıkarılan kesitler, ksilen ve azalan yönde dereceli alkol serisinden geçirilerek deparafinize edilecek ve distile su ile rehidrate edildikten sonra rutin histolojik boyama işlemine geçildi. Kesit alma işlemleri için ilk olarak pilot çalışma uygulandı. Pilot çalışma verileri değerlendirildikten sonra, kesit örneklem aralığı, kesit sayısı ve immünohistokimyasal boyama için kullanılacak olan kesit sayısına karar verildi.

3.6.4. Boyama işlemi

Plasenta dokusunda meydana gelen histolojik değişiklikleri gözlemlemek için kesitler Hematoksilen-Eozin (H-E) boyama yöntemi ile boyandı. (Demir, 2001). Bu boyanın tercih edilmesinin en önemli sebebi hücrelerin ana komponentlerini ayırt edici şekilde ortaya koyabilmesidir. Hematoksilen, hücre çekirdeğini mavi-siyah renkte boyayarak intra-nukleer detayı iyi gösterildi. Eozin ise hücre sitoplazmasını ve bağ dokusu elemanlarını çeşitli varyasyonlarda pembe, turuncu ve kırmızı renkte boyar. Boyama işleminden sonra lamaların üzerine Entellan® (Merck Millipore) damlatılıp lamel ile kapatılarak kesitler incelenmeye hazır hale gelmiş oldu.

3.7. Plasenta Örneklerinde KISS1 ve KISS1R Protein İfade Düzeyinin

İmmünohistokimyasal Yöntemlerle Belirlenmesi

Rutin doku takip işlemini takiben Leica RM2245 marka mikrotom kullanılarak stereolojik ratsgele örnekleme kuralına göre alınan kesitlerin yanısıra, 5 µm kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alınarak immünohistokimyasal boyama prosedürü için deparafinize edildi. Reaktifler için Ultravision Detection System Large Volume AEC Substrate System (Thermo Scientific, UK; Lot no: PHL181115) ve Anti-Poly valent, HRP (Thermo Scientific, UK; Lot no: HA45338) kullanıldı. Örnekler deparafinize edildikten sonra sırasıyla, %3'lük H₂O₂ solüsyonunda ve fosfat tamponunda bekletildi. Kesitlere grimer antikorlar uygulandıktan sonra bir gece bekletildi ve ardından Streptavidin Peroksidaz ile mumale edildi. Örnekler PBS ile yıkandıktan sonra DAP ile boyandı. Karşıt boyamada Mayer's Hematoksilen kullanıldı.

H-skorlama yöntemi kullanılarak gözlenen boyanmalar sayısal veriye dönüştürüldü. Güçlü boyanan çekirdeklerin yüzdesi 3 ile, orta derecede boyanan çekirdeklerin yüzdesi 2 ile ve zayıf boyanan çekirdeklerin yüzdesi 1 hesaplandı.

3.8. İstatiksel Analizlerin Gerçekleştirilmesi

Her grupta hastalara ait araştırılan değerlerin, ortalaması, standart sapması, standart hatası ve değişim katsayısı hesaplandı.

İstatiksel değerlendirmeler Prism 8 programı kullanılarak gerçekleştirildi. $p < 0,05$ düzeyindeki farklılıklar istatiksel olarak anlamlı, $p < 0,01$ düzeyindeki farklılıklar istatiksel olarak ileri düzeyde anlamlı ve $p < 0,001$ düzeyindeki farklılıklar istatiksel olarak çok ileri düzeyde anlamlı olarak değerlendirildi.

Gruplarda normal dağılım olduğu gözlemlendiğinde verilerin karşılaştırmasında, parametrik testlerden bağımlı t testi, normal dağılım gözlenmediğindeyse Mann-Whitney U testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışma kapsamında hastalardan elde edilen bulgular kategorik olarak aşağıda sunulmaktadır.

4.1. Demografik Verilerin Analizi

Araştırmaya katılan hastaların yaş, gravida, parite ve gebelik haftalarına ait veriler Tablo 7’de gösterilmektedir.

Tablo 7. Hastalara ait veriler

	Kontrol	PP	P
Yaş	31,74±4,26	32,00±4,89	0,56
Gravida	3,57±1,64	2,52±1,26	0,03
Parite	2,15±1,21	1,84±1,16	0,41
Gebelik haftası	34,37±2,56	34,16±2,71	0,80

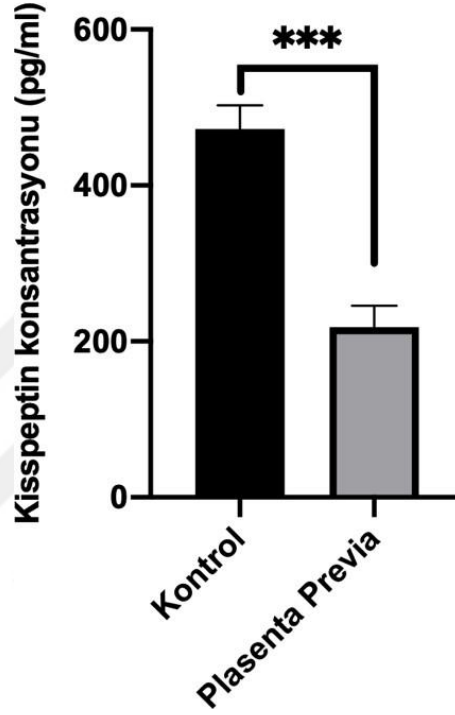
* ortalama±SD

Gönüllere ait yaş, gravida, parite ve gebelik haftasına ait dağılım grafikleri Şekil 1.5, 1.6, 1.7,1.8 de paylaşılmıştır.

4.2. Biyokimyasal Analizlerden Elde Edilen Bulgular

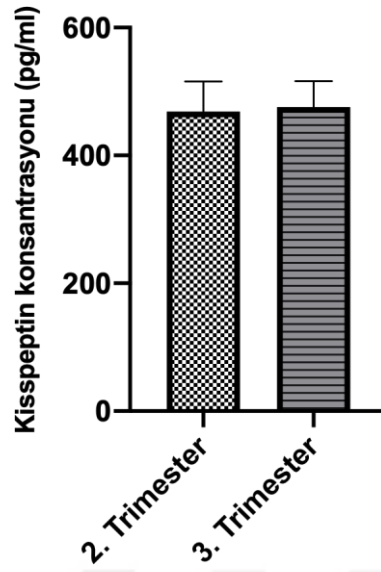
4.2.1. KISS1 düzeyinin serumda değerlendirilmesi

Serum örneklerinde KISS1 konsantrasyonunun değerlendirilmesi sonucu kontrol ve plasenta previa grubu arasında yapılan karşılaştırmalar, aşağıdaki grafikte sunulmuştur (Şekil 9).



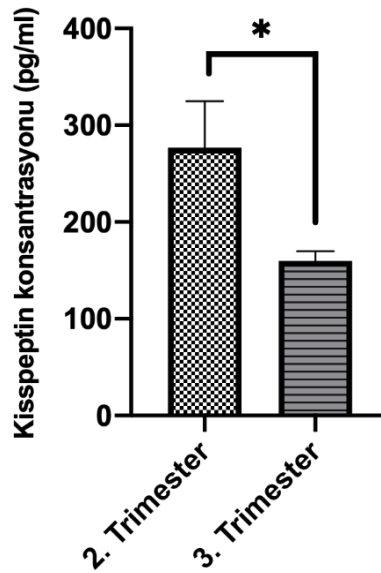
Şekil 9. Serum KISS1 düzeyinin kontrol ve plasenta previa grupları arasındaki farkı gösteren grafik (ortalama \pm SH), *** $p < 0,001$

Serumda KISS1 konsantrasyon düzeyinin değerlendirmesi sonucunda, kontrol grubunda plasenta previa grubuna oranla belirgin bir artış ve istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0,001$).



Şekil 10. Serum KISS1 düzeyinin kontrol grubunda 2. ve 3. trimester arasındaki farkını gösteren grafik (ortalama \pm SH)

Kontrol grubu içerisinde yer alan örnekler gebelik haftalarına göre kategorize edilerek 2. ve 3. trimester şeklinde iki ayrı alt kategoriye ayrılmış ve KISS1 konsantrasyon düzeyi değerlendirilmiştir. Kontrol grubundaki alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0,795$).



Şekil 11. Serum KISS1 düzeyinin plasenta previa grubunda 2. ve 3. trimester arasındaki farkını gösteren grafik (ortalama \pm SH), * $p<0,05$

Plasenta previa grubu içerisinde yer alan örnekler gebelik haftalıklarına göre kategorize edilerek 2. ve 3. trimester şeklinde iki ayrı alt kategoriye ayrılmış ve KISS1 konsantrasyon düzeyi değerlendirilmiştir. Plasenta previa grubundaki alt gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır (p=0,027). KISS1 konsantrasyon düzeyi 2. trimesterde daha yüksekken, 3. trimesterde daha düşük olduğu gözlenmiştir.

4.3. Gen Analiz Sonuçları

4.3.1. Total RNA konsantrasyonları ve saflık oranları

Plasenta örneklerine ait RNA konsantrasyonları ve saflık oranları Tablo 8'de gösterilmektedir.

Tablo 8. Total RNA konsantrasyonları ve saflık düzeyleri (A260/280)

Gruplar	Hasta No	A260/280	
		Kontrol	PP
Kontrol	1	404,5	1,82
	2	469,5	1,95
	3	368,8	1,79
	4	302,2	1,96
	5	581,5	1,73
	6	1035,3	1,73
	7	1268,9	1,79
	8	820,8	1,70
	9	1135,7	1,78
	10	159,1	1,75
	11	160,8	1,78
	12	284,7	1,86
	13	236,6	1,81
	14	516,1	1,85
	15	150,0	1,78

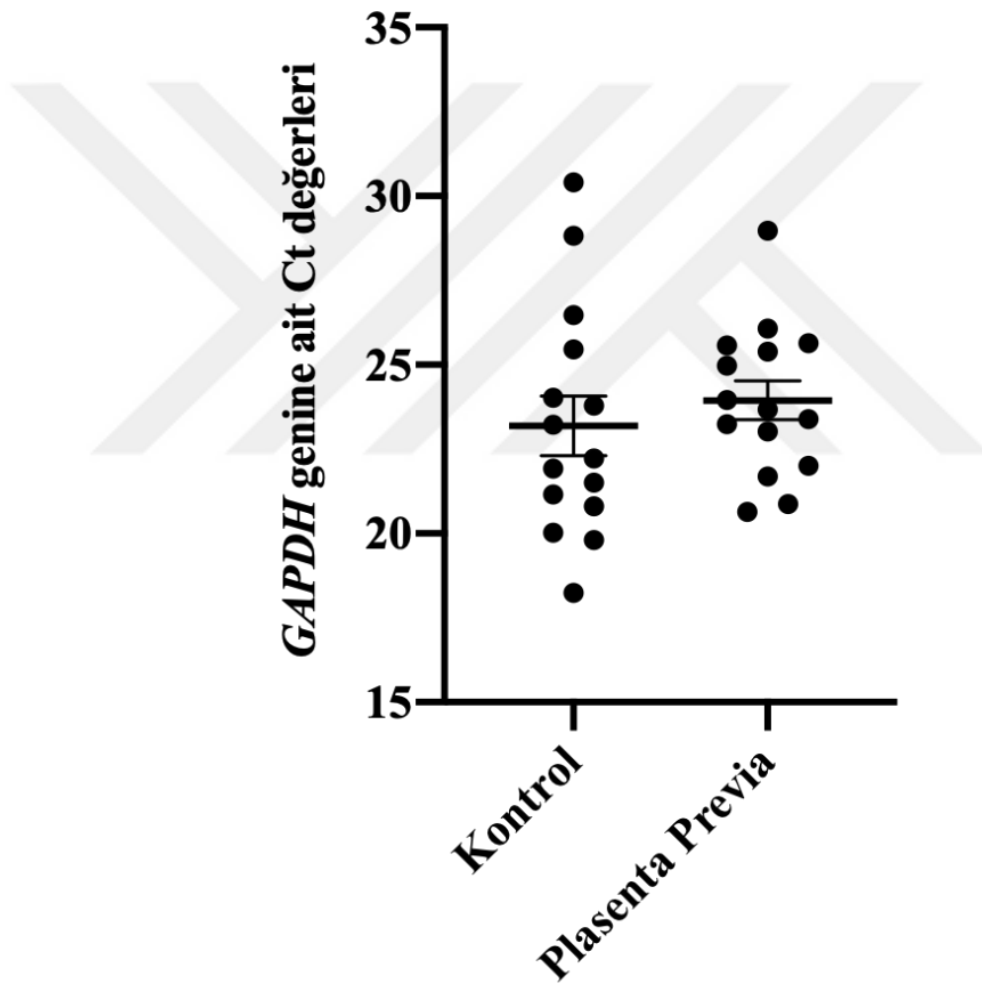
	16	270,8	1,83
	17	352,0	1,82
	18	226,9	1,80
	19	352,3	1,77
	20	137,6	1,85
PP	1	513,2	1,79
	2	135,6	1,72
	3	172,8	1,77
	4	163,5	1,73
	5	177,1	1,70
	6	234,5	1,72
	7	152,2	1,95
	8	216,4	1,79
	9	692,4	1,72
	10	245,9	1,78
	11	513,2	1,79
	12	625,0	1,75
	13	234,5	1,82
	14	657,2	1,78
	15	252,6	1,75
	16	470,6	1,84
	17	625,0	1,85
	18	354,7	1,82
	19	263,2	1,79
	20	135,6	1,72

4.3.2. Gen ifade düzeylerinin analizi

Her hastada incelenen *GAPDH*, *KISS1* ve *KISS1R* genlerine ait Ct değerlerinin ortalaması alınmıştır.

Gruplara ait *GAPDH* geni ortalama Ct değerleri incelendiğinde, Ct değerlerinin normal dağılım gsterdiği tespit edilmiştir. Kontrol ve plasenta previa grupları arasında geręekleřtirilen istatiksels değerlendirme neticesinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

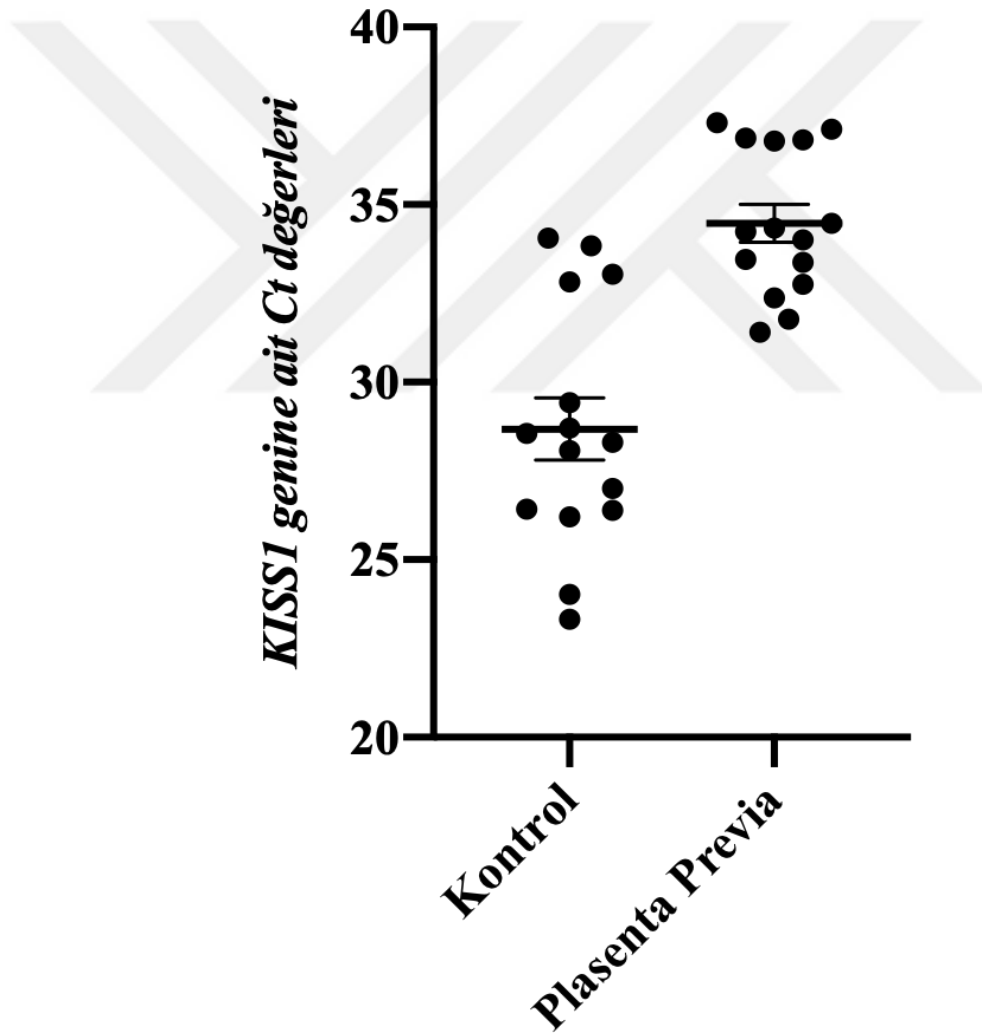
GAPDH genine ait ortalama Ct değerleri şekil 12’de sunulmuştur.



şekil 12. GAPDH genine ait Ct değerlerinin (ortalama±SH) gsterimi

Gruplara ait *KISS1* geni ortalama Ct değerleri incelendiğinde, Ct değerlerinin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol ve plasenta previa grupları arasında gerçekleştirilen istatiksels değerlendirme neticesinde gruplar arasında istatiksels olarak ileri düzeyde anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p < 0,001$). Plasenta previa grubunda *KISS1* gen ifade düzeyinin belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

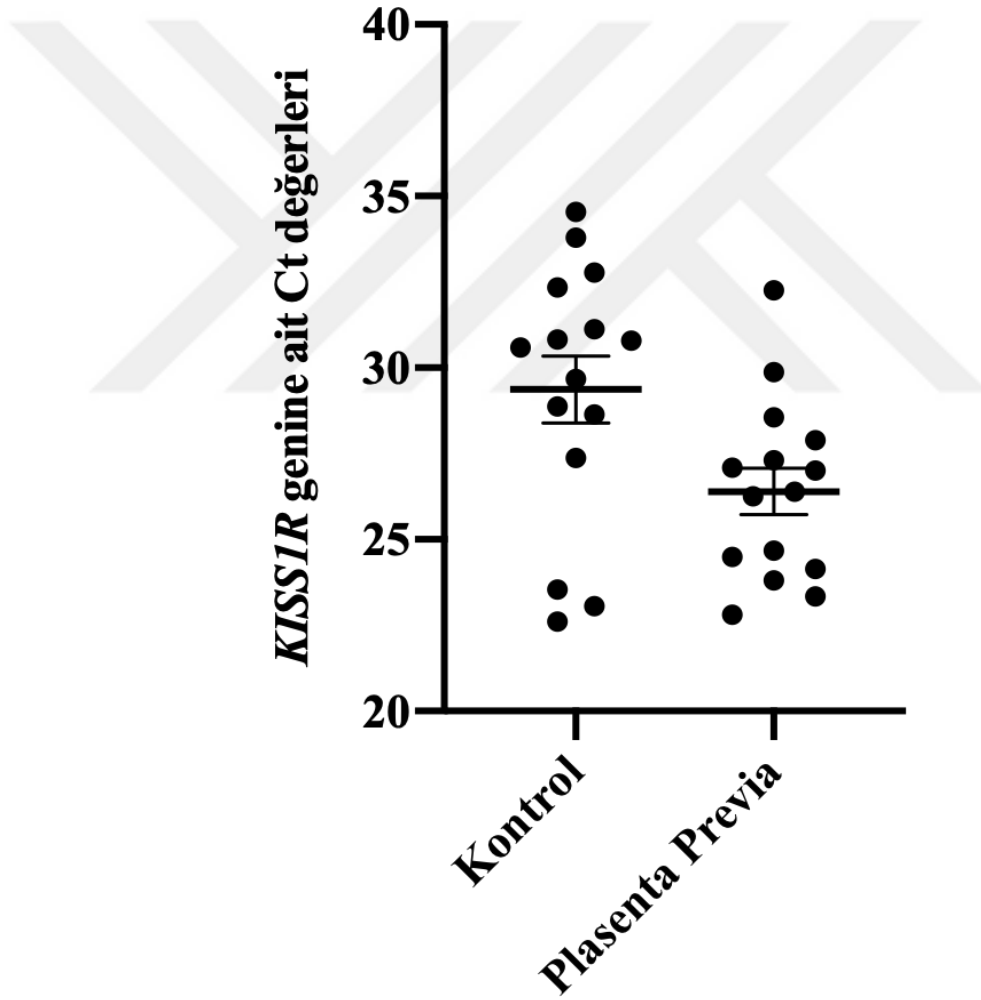
KISS1 genine ait ortalama Ct değerleri şekil 13'te sunulmuştur.



şekil 13. *KISS1* genine ait Ct değerlerinin (ortalama \pm SH) gösterimi

Gruplara ait *KISS1R* geni ortalama Ct değerleri incelendiğinde, Ct değerlerinin normal dağılım gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol ve plasente previa grupları arasında gerçekleştirilen istatiksels değerlendirme neticesinde gruplar arasında istatiksels olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$). Kontrol grubunda *KISS1R* gen ifade düzeyinin belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

KISS1R genine ait ortalama Ct değerleri şekil 14'te sunulmuştur.

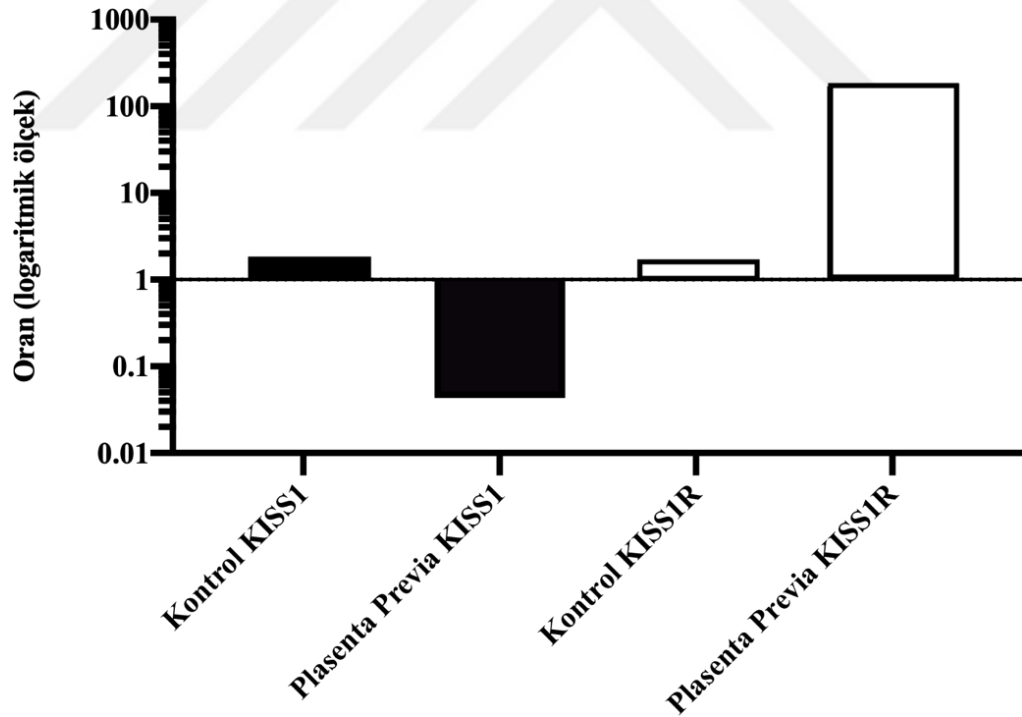


şekil 14. *KISS1R* genine ait Ct değerlerinin (ortalama±SH) gösterimi

Elde edilen ortalama Ct değerlerinin normalize edilerek $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülü ile hesaplanması neticesinde log2 katsayı dönüşümü yapılarak katsal değişimler hesaplanmıştır.

KISS1 gen ifade düzeyi açısından örnekler analiz edildiğinde, plasenta previa grubunda kontrol grubuna kıyasla *KISS1* gen ifade düzeyi 0,043 kat daha az görülürken, bu fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$).

KISS1R gen ifade düzeyi açısından örnekler analiz edildiğinde, plasenta previa grubunda kontrol grubuna kıyasla *KISS1R* gen ifade düzeyi 170 kat daha yüksek görülürken, bu fark istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulunmuştur ($p<0,001$) (Şekil 15).



Şekil 15. *KISS1* ve *KISS1R* gen ifade değişiminin gruplar arası oransal farkının gösterimi

5. TARTIŞMA

Diyabetes mellitus, gestasyonel diyabet, hipertansiyon, pulmoner emboli ve plasental yetmezliği olan gebelerde plazma kisspeptin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (61). Park et al. (61) kisspeptin ve aboutuslar arasında bir bağlantı olduğu fikri mevcuttur. İstemli olarak sonlandırılmış gebelikler ile habituel abortusu olan gebelerin plasentaları kıyaslandığında habituel abortusu olgularında plasental kisspeptin ekspresyon düzeylerinin daha düşük olduğunu gözlenmiş, ancak gebelik yaşı için eleştiride bulunulmamıştır (62).

Abortus imminensli gebeliklerde maternal plazma kisspeptin-10 seviyeleri daha düşüktür (63). Jayasena et al. (63) sağlıklı gebeliklere kıyasla düşük yapan kadınlarda gebeliğin ilk trimestrin da plazma kisspeptin düzeylerinin daha düşük olduğunu gözlemlemiş ve kisspeptinin, düşük riski yüksek olan gebelikleri belirlemek için potansiyel yeni bir belirteç sağlayabileceğini öne sürmüştür.

Kisspeptin uygulaması ile ilgili yapılan çalışmalarda kisspeptinin GnRH salınımını uyardığı gösterilmiştir (64), (65). Sağlıklı premenopozal kadınlarda subkutan kisspeptin enjeksiyonunun plazma LH düzeylerinin artmasına yol açtığı ve (66) bu etki en çok adet döngüsünün ovulasyon öncesi fazında belirgindi. Jayasena et al. (67, 68) hipotalamik amenoresi olan kadınlarda kisspeptin uygulamasının etkilerini inceledi. Kisspeptinin günde 2 kez subkutan uygulanmasının plazma gonadotropinlerinde bir artışa yol açtığını gözlemlendi (67, 68), ancak bu etki 2 hafta sonra azaldı. Bununla birlikte, hipotalamik amenoresi olan kadınlardan oluşan aynı kohortta haftada 2 defa kisspeptin uygulaması, 8 haftalık bir süre boyunca sürekli bir gonadotropin yanıtı ile sonuçlanmıştır (67). Park ve ark. (69, 70), kisspeptin ekspresyonunun endometriyal stromal hücrelerde desidualizasyon yoluyla arttığını buldu, bu da kisspeptinin endometriyumu yeterli plasantasyon için hazırlamada bir rolü olduğunu düşündürdü.

Plasentadan üretilen hormonlar, gebelik sürecinin yönetilmesine yardımcı olmak için kullanılır. hCG'ye benzer şekilde hem KISS1 hem de KISS1R plasentada yüksek oranda ifade edilir ve kisspeptinler insan plasentasından izole edilebilir (13).

Kisspeptin-54 insan plazmasında bulunduğu ve gebelik boyunca arttığı gösterilmiştir (71).Plasma kisspeptin seviyelerinin gebelikle ilişkili hastalıkları öngörmek ve teşhis etmek için potansiyel bir belirteç olabileceğini düşündürmüştür (13).

Yapılan birçok çalışma, uterin ve plasenta bazlı periferik KISS1/KISS1R sinyal sisteminin gebeliğin başlıca düzenleyicilerinden olduğuna dair bilgiler mevcuttur. Uterustaki KISS1/KISS1R sinyal sistemi embriyo implantasyonu ve desidualizasyonu düzenlerken, uterin ve plasental sistem birlikte plasentasyonu düzenler. Uterin KISS1 ve KISS1R, uterin epitelyuma embriyo adezyonu için gerekli olan endometriyal glandüler sekresyonların uygunluğunu kontrol ederek embriyo implantasyonunu kolaylaştırır.

Desidualize stromal hücreler ise KISS1R'yi eksprese ederek hücre motilitesini inhibe eder ve plasental invazyonu dolaylı olarak düzenler. Benzer şekilde, plasental kisspeptin ve KISS1R, ekstravillöz trofoblast göçünü ve istilasını sınırlandırarak uterusun plasental invazyonunu doğrudan kontrol eder. Uterus ve plasental bazlı KISS1/KISS1R sinyal sistemlerinin rolü, implantasyon başarısızlığı, tekrarlayan gebelik kaybı ve preeklampsi gibi gebelik sorunlarında prognostik ve tanısal belirteç olarak ve bu durumların tedavisinde terapötik bir ajan olarak kisspeptin kullanımını için umut verici görünmektedir (72).

Kisspeptin serum düzeylerini farklı hasta gruplarında, özellikle gebelerde farklı trimesterlerde ve birçok obstetrik durumda incelemiş pek çok çalışma bulunmaktadır. Maliyet nedeniyle çalışmamızda eř zamanlı serum/plazma kisspeptin düzeyleri bakılamamıştır. Mevcut çalışmalarda kisspeptin plazma seviyesinin, ilk trimesterde 900 kat ve üçüncü trimesterde 7000 kat artışla gebelik boyunca tırmanarak arttığı gösterilmiştir (71). Bizim çalışmamızda ise, kontrol grubunda ikinci ve üçüncü trimesterde plazma kisspeptin seviyelerinde bir farklılık gözlenmezken, plasenta previalı hastalarda üçüncü trimesterde ikinci trimestere kıyasla daha düşük düzeyde kisspeptin düzeyi tespit edilmiştir. Bu bulgular, plasenta previalı hastalarda gebelik haftasının ilerlemesiyle birlikte kisspeptin düzeyinin azalmasının anormal plasentasyon sürecinin ortaya çıkmasıyla ilişki olabileceğini ön plana çıkarmaktadır.

Erken gebelik dönemi ve term dönem plasentasındaki KISS1 mRNA ifade düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği ileri sürülmüştür (73). Kisspeptin-54 düzeylerinin erken dönem plasentada çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (57). Bu bilgiler göz önüne alındığında, plasentadaki KISS1 ifade seviyelerinin, Kisspeptinin plazma seviyelerini yansıtmayabileceği görülmektedir. Ancak bizim çalışmamızda, plasental KISS1 ifade düzeyi ile plazma KISS1 ifade düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla daha düşük çıkmıştır. Bu sonuçlar paralellik göstermekte ve plasenta previa hastalarında kisspeptin ifadesinin daha düşük olduğu noktasında birbirlerini doğrulamaktadır.

Plasenta gelişim, erken gebelik kayıplarının üçte ikisinde bulunur (67). Kisspeptin en fazla plasentanın sinsityotrofoblast hücrelerinde eksprese edilir ve burada maternal invazyonu düzenleyebilir (59). Plasenta gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülen preeklampsi ve intrauterin büyüme geriliği olan kadınlarda, komplikasyonsuz gebeliklere kıyasla kisspeptin düzeylerinin azaldığını ileri sürmüştür (69). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da plasenta previalı hastalarda kisspeptin seviyesi hem plazma düzeyinde hem de plasental doku düzeyinde daha düşük tespit edilmiştir. Armstrong ve ark. plasental yetmezlik ile ilişkili gebeliklerde, 2. trimesterde maternal serumda kisspeptin seviyeleri daha az olduğunu göstermişlerdir (74). Smets ve ark. tarafından yapılan çalışmada gebeliğin 1.trimesterında plazma kisspeptin seviyelerinin az olmasının düşük doğum ağırlığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (64) Bu çalışmalarda kisspeptin seviyelerindeki farklılıklar orta düzeydedir, bu nedenle preeklampsi ve intrauterin büyüme kısıtlamasında tek bir tarama belirteci oluşturmasa da kisspeptin ölçümünün diğer belirteçlerle kombinasyon halinde faydalı olabileceği öne sürülmüştür. Bizim çalışmamızda incelenen plasenta previalı hastalar açısından bakılınca, kisspeptin seviyesinin tespitinin plasenta previa tanısında etkin bir rol oynayabileceği öne sürülebilir.

Sinsityotrofoblast, kisspeptinleri ve reseptörünü belirtirken, ekstravillöz sitotrofoblast sadece trofoblast istilasını üzerindeki baskılayıcı etkiye aracılık eden KISS1R reseptörünü eksprese ettiği ileri sürülmüştür (74). Kisspeptin kendine özgü reseptörü KISS1R aracılığı ile proapoptotik genlerin ekspresyonunu uyarır (59). Plasental

apoptoz oranı villöz trofoblastların farklılaşmasında rol oynar ve gebelik haftası ilerledikçe fizyolojik olarak artar (69). Apoptoz, antiapoptotik bir role sahip olan BCL-2 olan proteinlerince düzenlenir, BAX proapoptotik olarak karşı bir etki uygular (75). BCL-2 ile BAX molekül arasındaki oran, hücrenin hayatta kalmasını sağlar veya hücre ölümüne sebep olur (75).

Bilban ve ark. (61) plasental Kisspeptin-10'un kollajenaz aktivitesini ve birinci trimesterde trofoblast hücrelerinin göçü ve invazyonunu azalttığını açıklamışlardır. Özellikle Kisspeptin-10'nun bu etkisi en fazladır. Trofoblast invazyonunun aksaması geniş spektrumlu gebelik anormalliğine yol açar. Trofoblastik invazyonun fazla olması durumunda pl. acruata pl. increata ve pl. percreata gibi invazyon durumları meydana gelirken, yetersiz invazyon durumunun IUGR ve preeklampsiye meydana gelebileceği düşünülmektedir (67). Trofoblast invazyonunun azalması ile preeklampsi ve IUGR gibi olumsuz gebelik koşullarında artmış plasental KISS-1 mRNA ve Kiss1R ekspresyonunun tesbit edilmiş olması KP-10'un plasental invazyonun düzenlenmesinde rolünün olduğunu göstermiştir (69). Mevcut çalışmamızda da plasenta previalı hastalarda kisspeptin ifade düzeyi daha düşük saptanmıştır. Kisspeptin seviyesinin düşük olması trofoblastik invazyon üzerindeki baskının azalmasına ve dolayısıyla aşırı invazyon durumunun meydana gelmesiyle plasenta previa gelişmesine yol açmış olabilir. Bu kapsamda değerlendirildiğinde, çalışmamızdaki bulgular literatür ile uyumluluk gösterirken, plasenta previa etiyolojisine de ışık tutmaktadır.

6. SONUÇLAR

Kisspeptinin plasental gelişim üzerinde kritik bir rol oynadığı literatürde paylaşılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Anti-metastatik bir etkiye sahip olan kisspeptinin gebeliğin ilk haftalarında hem plazmada hem de plasentada ifade düzeyinin yükselmesi, kisspeptinin plasental invazyonu kontrol altına aldığını düşündürmektedir. Bu nedenle, kisspeptin ifade düzeylerindeki dalgalanma plasental gelişimi ve invazyon düzeyini etkileyebilir. Mevcut çalışmamızda plasenta previalı hastalarda kontrol grubundaki hastalara göre kisspeptin ifade düzeyleri daha düşük çıkmıştır. Hem biyokimyasal hem de genetik analizler neticesinde alınan bulgular, plasenta previalı hastalarda kisspeptin ifade düzeyinin ciddi oranda daha düşük olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, plazma düzeyinde yapılan analizlerde plasenta previalı hastalarda üçüncü trimesterde kisspeptin ifade düzeyi ikinci trimestere göre daha düşük çıkmıştır. Bu bulgular, plasenta previalı hastalarda kisspeptin ifade düzeyinin daha düşük olduğunu ve dolayısıyla tropfoblast invazyonunu kontrol edemeyerek plasental invazyonunun anormal seyretmesine sebep olabileceğini düşündürmüştür. Plasental invazyon, apoptotik ve antiapoptotik süreçlerle ilişkili belirteçlerin taranması, plasenta previalı hastalarda kisspeptinin potansiyel rollerinin aydınlatılmasına yardımcı olabilir. Daha geniş ölçekli plasenta previalı hastalarda kisspeptin ölçümlerinin gerçekleştirilmesi, plasenta previanın olası tanı ve teşhisinde kisspeptin ifade düzeylerinin etkinliğinin tespit edilmesine olanak sağlayabilir. Plasenta previa modeli oluşturulmuş deney hayvanları üzerinde kisspeptin replasman tedavisi uygulamasının, plasenta previa etiolojisinde kisspeptinin olası rollerinin araştırılması ve hastalığın önlenmesi üzerine potansiyel etkilerinin tespit edilmesine olanak sağlayabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Cresswell JA, Ronsmans C, Calvert C, Filippi V. Prevalence of placenta praevia by world region: a systematic review and meta-analysis. *Trop Med Int Health*. 2013;18(6):712-24.
2. Gurol-Urganci I, Cromwell DA, Edozien LC, Smith GC, Onwere C, Mahmood TA, et al. Risk of placenta previa in second birth after first birth cesarean section: a population-based study and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2011;11:95.
3. Ebbing C, Kiserud T, Johnsen SL, Albrechtsen S, Rasmussen S. Prevalence, risk factors and outcomes of velamentous and marginal cord insertions: a population-based study of 634,741 pregnancies. *PLoS One*. 2013;8(7):e70380.
4. Chantraine F, Blacher S, Berndt S, Palacios-Jaraquemada J, Sarioglu N, Nisolle M, et al. Abnormal vascular architecture at the placental-maternal interface in placenta increta. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;207(3):188 e1-9.
5. Knofler M. Critical growth factors and signalling pathways controlling humantrophoblast invasion. *Int J Dev Biol*. 2010;54(2-3):269-80.
6. Pettersen S, Falk RS, Vangen S, Nyflot LT. Peripartum hysterectomy due to severe postpartum hemorrhage: A hospital-based study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2022;101(7):819-26.
7. Ananth CV, Smulian JC, Vintzileos AM. The association of placenta previa with history of cesarean delivery and abortion: a metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177(5):1071-8.
8. National Institutes of Health Consensus Development conference statement: vaginal birth after cesarean: new insights March 8-10, 2010. *Obstet Gynecol*. 2010;115(6):1279-95.
9. Ananth CV, Demissie K, Smulian JC, Vintzileos AM. Placenta previa in singleton and twin births in the United States, 1989 through 1998: a comparison of risk factor profiles and associated conditions. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(1):275-81.
10. Rosenberg T, Pariente G, Sergienko R, Wiznitzer A, Sheiner E. Critical analysis of risk factors and outcome of placenta previa. *Arch Gynecol Obstet*. 2011;284(1):47-51.

11. Jauniaux E, Bunce C, Gronbeck L, Langhoff-Roos J. Prevalence and main outcomes of placenta accreta spectrum: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;221(3):208-18.
12. Chantraine F, Braun T, Gonser M, Henrich W, Tutschek B. Prenatal diagnosis of abnormally invasive placenta reduces maternal peripartum hemorrhage and morbidity. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2013;92(4):439-44.
13. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88(23):1731-7.
14. Clarke H, Dhillon WS, Jayasena CN. Comprehensive Review on Kisspeptin and Its Role in Reproductive Disorders. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2015;30(2):124-41.
15. Oyelese Y, Smulian JC. Placenta previa, placenta accreta, and vasa previa. *Obstet Gynecol.* 2006;107(4):927-41.
16. Shobeiri F, Jenabi E. Smoking and placenta previa: a meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(24):2985-90.
17. Rosati P, Guariglia L. Clinical significance of placenta previa detected at early routine transvaginal scan. *J Ultrasound Med.* 2000;19(8):581-5.
18. Klar M, Michels KB. Cesarean section and placental disorders in subsequent pregnancies--a meta-analysis. *J Perinat Med.* 2014;42(5):571-83.
19. Clark SL, Koonings PP, Phelan JP. Placenta previa/accreta and prior cesarean section. *Obstet Gynecol.* 1985;66(1):89-92.
20. Gilliam M, Rosenberg D, Davis F. The likelihood of placenta previa with greater number of cesarean deliveries and higher parity. *Obstet Gynecol.* 2002;99(6):976-80.
21. Weis MA, Harper LM, Roehl KA, Odibo AO, Cahill AG. Natural history of placenta previa in twins. *Obstet Gynecol.* 2012;120(4):753-8.
22. King LJ, Dhanya Mackeen A, Nordberg C, Paglia MJ. Maternal risk factors associated with persistent placenta previa. *Placenta.* 2020;99:189-92.
23. Babinszki A, Kerenyi T, Torok O, Grazi V, Lapinski RH, Berkowitz RL. Perinatal outcome in grand and great-grand multiparity: effects of parity on obstetric risk factors. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181(3):669-74.

24. Williams MA, Mittendorf R, Lieberman E, Monson RR, Schoenbaum SC, Genest DR. Cigarette smoking during pregnancy in relation to placenta previa. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;165(1):28-32.
25. Mouer JR. Placenta previa: antepartum conservative management, inpatient versus outpatient. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170(6):1683-5; discussion 5-6.
26. Fratelli N, Prefumo F, Maggi C, Cavalli C, Sciarrone A, Garofalo A, et al. Ultrasound for antenatal diagnosis of placenta accreta spectrum in women with placenta previa: results from ADoPAD study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2022.
27. Dashe JS. Toward consistent terminology of placental location. *Semin Perinatol.* 2013;37(5):375-9.
28. Alouini S, Megier P, Fauconnier A, Huchon C, Fievet A, Ramos A, et al. Diagnosis and management of placenta previa and low placental implantation. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020;33(19):3221-6.
29. Charles JL KR. Placenta previa: Epidemiology, clinical features, diagnosis, morbidity and mortality 2022 [updated 2022. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-features-diagnosis-and-course-of-placenta-previa>. .
30. Brenner WE, Edelman DA, Hendricks CH. Characteristics of patients with placenta previa and results of "expectant management". *Am J Obstet Gynecol.* 1978;132(2):180-91.
31. Cotton DB, Read JA, Paul RH, Quilligan EJ. The conservative aggressive management of placenta previa. *Am J Obstet Gynecol.* 1980;137(6):687-95.
32. Cunnigham FG LK, Bloom SL, Hauth JC, Dwight JR, Spong YC. *Obstetrik Kanama. Williams Obstetrik*2010. p. 35.
33. Fan D, Wu S, Liu L, Xia Q, Wang W, Guo X, et al. Prevalence of antepartum hemorrhage in women with placenta previa: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2017;7:40320.
34. Ruiter L, Eschbach SJ, Burgers M, Rengerink KO, van Pampus MG, Goes BY, et al. Predictors for Emergency Cesarean Delivery in Women with Placenta Previa. *Am J Perinatol.* 2016;33(14):1407-14.

35. Oya A, Nakai A, Miyake H, Kawabata I, Takeshita T. Risk factors for peripartum blood transfusion in women with placenta previa: a retrospective analysis. *J Nippon Med Sch.* 2008;75(3):146-51.
36. Ghourab S. Third-trimester transvaginal ultrasonography in placenta previa: does the shape of the lower placental edge predict clinical outcome? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18(2):103-8.
37. Sekiguchi A, Nakai A, Okuda N, Inde Y, Takeshita T. Consecutive cervical length measurements as a predictor of preterm cesarean section in complete placenta previa. *J Clin Ultrasound.* 2015;43(1):17-22.
38. Durukan H, Durukan OB, Yazici FG. Planned versus urgent deliveries in placenta previa: maternal, surgical and neonatal results. *Arch Gynecol Obstet.* 2019;300(6):1541-9.
39. Leerentveld RA, Gilberts EC, Arnold MJ, Wladimiroff JW. Accuracy and safety of transvaginal sonographic placental localization. *Obstet Gynecol.* 1990;76(5 Pt 1):759-62.
40. Dashe JS, McIntire DD, Ramus RM, Santos-Ramos R, Twickler DM. Persistence of placenta previa according to gestational age at ultrasound detection. *Obstet Gynecol.* 2002;99(5 Pt 1):692-7.
41. McClure N, Dornal JC. Early identification of placenta praevia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990;97(10):959-61.
42. Miller DA, Chollet JA, Goodwin TM. Clinical risk factors for placenta previa-placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177(1):210-4.
43. Getahun D, Oyelese Y, Salihu HM, Ananth CV. Previous cesarean delivery and risks of placenta previa and placental abruption. *Obstet Gynecol.* 2006;107(4):771-8.
44. Sinclair S, Masters HR, DeFranco E, Rountree S, Warshak CR. Universal transvaginal cervical length screening during pregnancy increases the diagnostic incidence of low-lying placenta and placenta previa. *Am J Obstet Gynecol MFM.* 2021;3(1):100255.
45. Vahanian SA, Lavery JA, Ananth CV, Vintzileos A. Placental implantation abnormalities and risk of preterm delivery: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(4 Suppl):S78-90.

46. Crane JM, van den Hof MC, Dodds L, Armson BA, Liston R. Neonatal outcomes with placenta previa. *Obstet Gynecol.* 1999;93(4):541-4.
47. Sheiner E, Shoham-Vardi I, Hallak M, Hershkowitz R, Katz M, Mazor M. Placenta previa: obstetric risk factors and pregnancy outcome. *J Matern Fetal Med.* 2001;10(6):414-9.
48. Abenhaim HA, Azoulay L, Kramer MS, Leduc L. Incidence and risk factors of amniotic fluid embolisms: a population-based study on 3 million births in the United States. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199(1):49 e1-8.
49. Gagnon R, Diagnostic Imaging C, Maternal Fetal Medicine C. Guidelines for the management of vasa previa. *J Obstet Gynaecol Can.* 2009;31(8):748-53.
50. Baulies S, Maiz N, Munoz A, Torrents M, Echevarria M, Serra B. Prenatal ultrasound diagnosis of vasa praevia and analysis of risk factors. *Prenat Diagn.* 2007;27(7):595-9.
51. V V. Üçüncü trimestir kanamaları. *Hacettepe Tıp Dergisi*,2009.
52. Reddy UM, Abuhamad AZ, Levine D, Saade GR, Fetal Imaging Workshop Invited P. Fetal imaging: Executive summary of a Joint Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development, Society for Maternal-Fetal Medicine, American Institute of Ultrasound in Medicine, American College of Obstetricians and Gynecologists, American College of Radiology, Society for Pediatric Radiology, and Society of Radiologists in Ultrasound Fetal Imaging Workshop. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;210(5):387-97.
53. Lam CM, Wong SF, Chow KM, Ho LC. Women with placenta praevia and antepartum haemorrhage have a worse outcome than those who do not bleed before delivery. *J Obstet Gynaecol.* 2000;20(1):27-31.
54. Love CD, Wallace EM. Pregnancies complicated by placenta praevia: what is appropriate management? *Br J Obstet Gynaecol.* 1996;103(9):864-7.
55. Society for Maternal-Fetal Medicine . Electronic address pso, Gyamfi-Bannerman C. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) Consult Series #44: Management of bleeding in the late preterm period. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218(1):B2-B8.
56. Gianetti E, Seminara S. Kisspeptin and KISS1R: a critical pathway in the reproductive system. *Reproduction.* 2008;136(3):295-301.

57. Cartwright JE, Williams PJ. Altered placental expression of kisspeptin and its receptor in pre-eclampsia. *J Endocrinol.* 2012;214(1):79-85.
58. Wang X, Chang F, Bai Y, Chen F, Zhang J, Chen L. Bisphenol A enhances kisspeptin neurons in anteroventral periventricular nucleus of female mice. *J Endocrinol.* 2014;221(2):201-13.
59. Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. *N Engl J Med.* 2001;345(19):1400-8.
60. Hiden U, Bilban M, Knofler M, Desoye G. Kisspeptins and the placenta: regulation of trophoblast invasion. *Rev Endocr Metab Disord.* 2007;8(1):31-9.
61. Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci.* 2004;117(Pt 8):1319-28.
62. Francis VA, Abera AB, Matjila M, Millar RP, Katz AA. Kisspeptin regulation of genes involved in cell invasion and angiogenesis in first trimester human trophoblast cells. *PLoS One.* 2014;9(6):e99680.
63. Cao Y, Li Z, Jiang W, Ling Y, Kuang H. Reproductive functions of Kisspeptin/KISS1R Systems in the Periphery. *Reprod Biol Endocrinol.* 2019;17(1):65.
64. Schellenberg JC, Shelling AN, Van Ee CC. Activity, synthesis, storage, and messenger RNA of cyclooxygenase in intrauterine tissues of guinea pigs near term and during labor. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2003;68(4):291-8.
65. Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Alam F, Rehman R. Kisspeptin and embryo implantation after ICSI. *Reprod Biomed Online.* 2017;34(2):147-53.
66. Sparkes RS. Genetic abnormalities: the consequences of chromosome imbalance. *Science.* 1987;235(4791):916a.
67. Shih IM, Kurman RJ. New concepts in trophoblastic growth and differentiation with practical application for the diagnosis of gestational trophoblastic disease. *Verh Dtsch Ges Pathol.* 1997;81:266-72.
68. Nelen WL, Blom HJ, Steegers EA, den Heijer M, Eskes TK. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. *Fertil Steril.* 2000;74(6):1196-9.

69. Lee JH, Welch DR. Suppression of metastasis in human breast carcinoma MDA-MB-435 cells after transfection with the metastasis suppressor gene, KiSS-1. *Cancer Res.* 1997;57(12):2384-7.
70. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, d'Addeda M, Cappucci G, Vecchione G, et al. Factor V Leiden is associated with repeated and recurrent unexplained fetal losses. *Thromb Haemost.* 1997;77(5):822-4.
71. Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, et al. Dramatic elevation of plasma metastatin concentrations in human pregnancy: metastatin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(2):914-9.
72. Radovick S, Babwah AV. Regulation of Pregnancy: Evidence for Major Roles by the Uterine and Placental Kisspeptin/KISS1R Signaling Systems. *Semin Reprod Med.* 2019;37(4):182-90.
73. Janneau JL, Maldonado-Estrada J, Tachdjian G, Miran I, Motte N, Saulnier P, et al. Transcriptional expression of genes involved in cell invasion and migration by normal and tumoral trophoblast cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(11):5336-9.
74. Armstrong RA, Reynolds RM, Leask R, Shearing CH, Calder AA, Riley SC. Decreased serum levels of kisspeptin in early pregnancy are associated with intra-uterine growth restriction and pre-eclampsia. *Prenat Diagn.* 2009;29(10):982-5.
75. Daher S, Guimaraes AJ, Mattar R, Ishigai MM, Barreiro EG, Bevilacqua E. Bcl-2 and Bax expressions in pre-term, term and post-term placentas. *Am J Reprod Immunol.* 2008;60(2):172-8.



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

Sayı: B.30.2.ODM.0.20.08/625-682

15.11.2021

Sayın Doç. Dr. Ayşe Zehra ÖZDEMİR

Etik Kurulumuza sunmuş olduğunuz Plasenta Previa hastalarında kisspeptin ifade düzeylerinin değerlendirilmesi başlıklı OMÜ KA EK 2021/481 Karar nolu Biyokimya çalışması+Genetik çalışma nitelikli araştırma projeniz amaç, gerekçe, yaklaşım ve yöntemle ilgili açıklamaları, Klinik Araştırmalar Etik kurulu yönergesine göre 13.10.2021 tarihli Etik Kurulumuzda incelenmiş etik açıdan uygun bulunmuştur. Ancak araştırma bütçesinin maddi desteği henüz sağlanmadığından projeye bütçe desteği sağlanıp, tarafımıza bildirilmesinden sonra başlanmasına oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinize arz/rica ederim.



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen: Yunus Katırcı
Ödev başlığı: TEZ BENZERLİK
Gönderi Başlığı: Tez
Dosya adı: Yunus_K_Tez_15_Ag_ustos.docx
Dosya boyutu: 1.18M
Sayfa sayısı: 65
Kelime sayısı: 10,870
Karakter sayısı: 78,110
Gönderim Tarihi: 26-Ağu-2022 04:11ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1887436897

