



T.C

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

**AÇIKLANAMAYAN HABİTÜEL ABORTUSU OLAN
HASTALARDA PLASENTAL KİSSPEPTİN İFADE
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. GÜLNUR ÇOBAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

SAMSUN-2021



T.C

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANA BİLİM DALI

**AÇIKLANAMAYAN HABİTÜEL ABORTUSU OLAN
HASTALARDA PLASENTAL KİSSPEPTİN İFADE
DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Gülnur ÇOBAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. İdris KOÇAK

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından **PYO.TIP.1904.21.004** kodlu proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN-2021

TEŞEKKÜR

Çalışmamı hazırlarken her konuda bilgi ve tecrübesiyle yol gösteren, destek olan danışman hocam Prof. Dr. İdris KOÇAK' a teşekkürlerimi sunarım. Bu süreç boyunca yardımlarını esirgemeyen hocam Doç. Dr. Ayşe Zehra ÖZDEMİR'e, tez çalışmamda büyük emeği geçen Histoloji Ana Bilim Dalı'ndan Adem KOCAMAN'a, ayrıca tüm asistanlık sürecinde bana her konuda emek veren Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi 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, kız kardeşlerime ve eşim Dr. Enes Furkan ÇOBAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gülnur ÇOBAN

Temmuz 2021

BEYAN

“Açıklanamayan habitüel abortusu olan hastalarda plasental Kisspeptin ifade düzeylerinin incelenmesi” başlıklı tez çalışmamın 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. Bu tez çalışması PYO.TIP.1904.21.004 kodlu proje ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi BAP Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

Amaç

Habituel abortus terimi 20. gebelik haftasından önce veya 500 gram altında gebeliklerin üç veya daha fazla kez kendiliğinden sonlanması olarak ifade edilmektedir. Plasenta yatağındaki trombozun, plasenta ile ilişkili gebelik komplikasyonlarından kısmen sorumlu olduğu varsayılmıştır. Abortus olan hastalarda trombozdan çok plasental invazyon bozukluğu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmanın amacı; son yıllarda implantasyon, plasental proliferasyon ve apoptoz üzerindeki etkileriyle dikkat çeken kisspeptin ifade düzeylerini, açıklanamayan habituel abortus öyküsü olan kadınların terme ulaşip sağlıklı doğum gerçekleştirdikleri gebeliğe ait plasentalarda incelemektir.

Hastalar ve Yöntem

Deney grubunda habitel abortus öyküsü olan ve gebeliği terme ulaşan kadınlara ait 20 plasenta örneği, ilaç+deney grubunda habitel abortus öyküsü olan ve gebeliği boyunca düşük moleküler ağırlıklı heparin tedavisi alarak terme ulaşan kadınlara ait 20 plasenta örneği ve kontrol grubunda habitel abortus öyküsü olmayan ve terme ulaşan sağlıklı kadınlara ait 20 plasenta örneği çalışmaya dahil edilmiştir. Toplanan dokular rutin histolojik prosedürleri takiben immünohistokimyasal olarak analiz edildi.

Bulgular

Kisspeptin ifade düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde olduğu görülürken, deney grubunda en düşük düzeyde ifade edildiği saptanmış ve ilaç+deney grubunda göreceli olarak yükseldiği gözlenmiştir. Kisspeptin reseptörü ifade düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tartışma ve Sonuç

Kisspeptinlerin plasental invazyon üzerinde tek yönlü bir sınırlayıcı etkiden çok invazyonu düzenleyen, dengede tutan, implantasyona ve plasentanın potansiyel kapasitesine ulaşmasına yardımcı moleküller oldukları düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Habitüel abortus, Plasenta ile ilişkili gebelik komplikasyonları, Canlı Doğum, Kisspeptin

ABSTRACT

Objective

Habitual abortion is defined as the loss of three or more pregnancies that occur before the 20th gestational week or less than 500 grams. It has been hypothesized that thrombosis in the placental bed is partially responsible for placenta-related pregnancy complications. There are studies showing that patients with abortion have placental invasion disorder rather than thrombosis. The aim of this study is to examine the expression levels of kisspeptin, which has attracted attention in recent years with its effects on implantation, placental proliferation and apoptosis, in placentas belonging to pregnancy, where women with unexplained habitual abortion history reached term and gave healthy birth.

Patients and Methods

The study included 20 placenta samples belonging to women with a history of habitual abortion and reached the term pregnancy in the experimental group, 20 placenta samples belonging to women with a history of habitual abortion and reached the term by receiving low molecular weight heparin treatment throughout their pregnancy in the drug+experiment group, and 20 placenta samples belonging to health women without a history of habitual abortion and reached the term in the control group. Collected tissues were analyzed immunohistochemically following routine histological procedures.

Results

Kisspeptin expression level was significantly higher in the control group, while it was at the lowest level in the experimental group, and it was relatively increased in the drug+experiment group. There was no statistically significant difference between the groups in terms of kisspeptin receptor expression levels.

Discussion and Conclusions

Kisspeptins were thought to be molecules that regulate and stabilize the invasion, help the implantation and reach the potential capacity of the placenta, rather than a one-way limiting effect on placental invasion.

Keywords: Habitual abortion, placenta-related pregnancy complications, livebirth, Kisspeptin

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
BEYAN	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İmplantasyon ve Plasentasyon.....	3
2.2. Erken Gebelik Kayıpları ve Habitüel Abortus	7
2.3. Erken Gebelik Kaybı Etyolojisi.....	8
2.3.1. Genetik nedenler	8
2.3.2. Anatomik nedenler.....	9
2.3.3. Enfeksiyöz nedenler.....	10
2.3.4. Çevresel faktörler.....	10
2.3.5. İmmunolojik nedenler.....	11
2.3.6. Koagülasyon sistemi bozuklukları.....	12
2.3.7. Endokrin faktörler.....	13
2.4. Kisspeptinler.....	14
2.4.1. Foliküler fazda Kisspeptin.....	15
2.4.2. Ovulasyonda Kisspeptin	16
2.4.3. Luteal fazda Kisspeptin ve İmplantasyon.....	17
2.4.4. Gebelikte Kisspeptin.....	18
2.4.5. İn-vitro fertilizasyonda Kisspeptin	19
3.HASTALAR VE YÖNTEM	20
3.1. Etik Kurul Onayı, Olguların Çalışmaya Dahil Edilme Ölçütleri, Grupların Oluşturulması.....	20
3.2. Placenta Örneklerinin Toplanması.....	21
3.3. Placenta Örneklerinin Rutin Histolojik Doku Takip Prosedürleri ile Analize Hazır Hale Getirilmesi.....	21
3.4. Örneklerden Elde Edilen Kesitlerin Uygun Boyama Prosedürleri ile Boyanması	23
3.5. Dokudaki Yapısal Değişikliklerin Değerlendirilmesi	24

3.6. İmmünohistokimyasal Analizler.....	24
3.7. İstatiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi	26
4.BULGULAR	27
5.TARTIŞMA	34
6. SONUÇLAR	40
7. KAYNAKLAR	41
8. EKLER	55
8.1. Tez Çalışması Özgünlük Raporu Beyanı.....	55
8.2. Etik Kurul Belgesi	56



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APA	: Antifosfolipid Antikor
APAS	: Antifosfolipid Antikor Sendromu
BAP	: Bilimsel Araştırma Projeleri
DMAH:	Düşük Moleküler Ağırlıklı Heparin
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EVT	: Ekstravillöz Sitotrofoblast
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salıcı Hormon
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IUGR	: İntrauterin Gelişme Geriliği
IVF	: İn-vitro Fertilizasyon
IVIG	: İntravenöz İmmünglobulin
KAEK:	Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
LH	: Lüteinize Hormon
MMP	: Matriks Metalloproteinazlar
OHSS	: Over Hiperstimülasyon Sendromu
OMÜ	: Ondokuz Mayıs Üniversitesi
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
TGF-B:	Dönüştürücü Büyüme Faktörü-Beta
TIMP	: Doku İnhibitör Metalloproteinazlar
TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Plasenta dokusunda örnekleme işleminin gösterimi.....	22
Şekil 2. Plasenta görüntüsü üzerinde immünohistokimyasal analizin gösterimi	26
Şekil 3. Kesitlerin Hemotoksilen Eozin ile boyalı görüntüsü.....	27
Şekil 4. KISS1 ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata).....	28
Şekil 5. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen KISS1 görüntüleri....	29
Şekil 6. KISS1R ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata) ..	30
Şekil 7. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen KISS1R görüntüleri .	30
Şekil 8. Ki-67 ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata)	31
Şekil 9. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen Ki-67 görüntüleri.....	31
Şekil 10. BCL-2 ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata) ...	32
Şekil 11. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen Bcl-2 görüntüleri....	33

Tablo 1. Dokuların histolojik rutin takip protokolü	22
Tablo 2. Kesitlerin Hematoksilen ve Eozin ile boyanma protokolü.....	23
Tablo 3. Çalışma popülasyonunun demografik karakteristiği.....	27
Tablo 4. KISS1 ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi	28
Tablo 5. KISS1R ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi.....	29
Tablo 6. Ki-67 ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi.....	31
Tablo 7. BCL-2 ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi.....	32

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Başarılı bir gebelik, yeterli plasental dolaşımın gelişimini gerektirir. Placenta yatağındaki trombozun, placenta ile ilişkili gebelik komplikasyonlarından kısmen sorumlu olduğu varsayılmıştır (1). Bu komplikasyonların, az gelişmiş placenta damarlanması, placenta inflamasyonu ile anormal plasental gelişimin sonucu olduğu da ileri sürülmüştür (2). İnsidansın genel popülasyonda olduğundan daha fazla olduğu gösterilememiştir.

Habituel abortus terimi 20. gebelik haftasından önce veya 500 gram altında gebeliklerin üç veya daha fazla kez kendiliğinden sonlanması olarak ifade edilmektedir (1). Bu hastalarda rutin bir tedavi bulunmamaktadır. Progesteron ve düşük doz aspirin kullanımının faydalı olduğu konusunda yayınlar mevcuttur (2-4). Abortus öyküsü olan hastalarda trombozdan çok plasental invazyon bozukluğu olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (5, 6).

Placenta gebeliğin devamı için oldukça önemli bir organdır. Placental gelişimi, fetal trofoblast hücrelerinin gebeliğin erken döneminde decidua içine invazyonu, gebeliğin devamı için çok önemlidir. Bu süreç, birçok hücrenin bölünmesini, göçünü ve farklılaşmasını içerir ve aynı zamanda yoğun bir vasküler ağ gelişir. Placenta, habitüel abortus öyküsü olan hastalar üzerinde yapılan birçok çalışmada değerlendirilmiştir ve placentaldaki bazı patolojik durumların abortusa neden olduğu düşünülmektedir. Habitüel abortus öyküsü olan hastaların placentalında, spontan abortus olan hastalara göre apoptoz daha sık görülür. Normal karyotipe sahip habitüel abortus materyallerinde, spontan abortuslara göre plasental perivillöz fibrin birikimi, kronik villitis, kronik histiyositik intervillözite ve plazma hücre desiduit oranı daha yüksektir (7, 8).

Placental morfolojik incelenmesi fetüsü etkileyen hastalıkların patogenezinin anlaşılması için oldukça önemlidir (9). Placental villöz alan plasental iskemiye bağlı olarak değişmektedir (10). Villus damar alanı sinsityotrofoblastların intervillöz alana çıkması ve deepitelizasyon ile fibröz doku birikimi nedeniyle azalmaktadır (11). Sinsityal nodlar sinsityal nükleusların birikimi nedeniyle oluşmakta, malperfüzyon ve hipoksi arttığında nod sayısı artmaktadır (12). Perivillöz fibrin depolanması villusların etrafında eozinofilik fibrin birikimidir (13). Fibrin birikimi villuslar etrafındaki

oksijenizasyonu bozar ve iskemik nekroza neden olur (14). Açıklanamayan habitüel abortus öyküsü olan gebelerin terme ulaşp canlı doğum yaptıkları gebeliklerdeki plasentanın immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak incelenmesi, hastaların plasentalarındaki olası bir değişimin göstergesi olabilir.

Son yıllarda plasenta gelişiminde kisspeptinlerin önemli bir rolü olduğu ileri sürülmektedir. İlk trimesterde dolaşımdaki kisspeptin seviyesinin binlerce kat artması ve aynı zamanda plasenta dokusunda kisspeptin reseptörlerinin belirgin düzeyde artış göstermesi, kisspeptinin plasenta gelişimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Kisspeptin, ilk olarak 1996 yılında antimetastatik özellikleri ile keşfedilen ve metastaz olarak isimlendirilen bir nöropeptiddir. Antimetastatik özelliklerine ek olarak, 2000’li yıllardan itibaren puberteye geçişte hipotalamusun uyarılmasını sağlayarak hipofizden gonadları uyaran hormonların salınımını tetiklediği gösterilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda ise, ilk trimesterde daha agresif gelişim gösteren plasenta oluşumu ile kisspeptin seviyesindeki artış dikkatleri çekmiştir. Bu noktada, kisspeptin düzeyi ile plasenta gelişimi arasında bir ilişki olup olmayacağına dair hipotezler ortaya çıkmaya başlamıştır. Habitüel abortus öyküsü olan hastalarda kisspeptin ve kisspeptin reseptör düzeyinin doku düzeyinde tespit edilmesi bu alandaki çalışmalara yol gösterici nitelikte olabilir. Buna ek olarak, plasenta dokusundaki apoptotik ve proliferatif belirteç düzeyleri ile kisspeptin düzeylerinin ilişkisinin araştırılması, habitüel abortus öyküsü olan hastalarda plasenta gelişimine dair aydınlatıcı bir bulgu sunabileceği düşünülmüştür.

2. GENEL BİLGİLER

Plasenta, literatürde yaygın olarak "hayat ağacına" benzetilmektedir. Plasenta kelime kökeni olarak; Latince kek (plasenta), Yunanca düz, levha benzeri (plakóenta / plakoúnta) ve Almanca'da anne keki (mutterkuchen) anlamına gelmekle birlikte esasen hepsi insan plasentasının şekil olarak yuvarlak, düz görünümüne değinmektedir. Plasenta, hemokoriyal villöz yapıların bir araya gelmesiyle oluşmuştur. Plasentanın fonksiyonel yapıtaşlarıysa, maternal-fetal dolaşımı birbirinden ayıran sinsityotrofoblastlar ve sitotrofoblastlar, villöz stroma, fetal vasküler yapılar ve endotelyum katmanlarıdır. İşlevsel olarak plasenta birçok sistemi içinde barındıran karmaşık bir bütündür. Gaz değişimini sağlayarak solunum sistemi, gerekli besinlerin emilimini sağlayarak sindirim sistemi, metabolit atıkları uzaklaştırarak boşaltım sistemi, fetüsü annenin immün saldırısından koruyarak bir bağışıklık sistemi görevi görür. Tüm bunların yanında plasenta aynı zamanda, gebeliğin seyrini düzenleyen, fetal gelişimi ve doğumun başlamasını sağlayan çeşitli hormon ve büyüme faktörlerinin de üretildiği endokrin bir organdır. Plasentanın tüm bu hayati fonksiyonlarını yerine getirebilmesiyle sağlıklı bir şekilde vaskülarizasyonunu tamamlasıyla mümkündür. Plasentanın vasküler gelişim bozuklukları bir çok gebelik komplikasyonu oluşturarak anne ve fetüsün sağlığını ciddi anlamda tehdit eder (15).

Gebeliğin ilk üç ayında yavaş yavaş, kademeli olarak oluşan plasenta, dördüncü aydan sonra uterus gelişimine paralel olarak büyümeye devam eder. Bu süreç tamamlandığında yaklaşık 20 cm çapında ve 3 cm kalınlığında süngerimsi bir diske benzer (16).

Plasentanın birçok patolojisini histolojik inceleme ile tespit etmek mümkünken, birçok lezyon da oldukça patognomonik görünümüyle, minimum çabayla kolayca tanımlanabilir (17). Plasenta buzdolabında taze olarak saklanabilir veya doğumdan sonra daha ileri inceleme için gerekirse fiksatif içine yerleştirilebilir (18).

2.1. İmplantasyon ve Plasantasyon

Plasenta ve fetüsün gelişimi, fertilizasyon anında başlayan sürekli devam eden bir süreçtir. Bu gelişim sürecinin ilk üç günü fallop tüpünde gerçekleşir. Sperm ve yumurtanın döllenmesini takiben, zigot dört kez mitoz hücre bölünmesi geçirerek bir

morula (16 hücre) meydana getirir. Fertilizasyondan yaklaşık dördüncü gün sonra, morula içi sıvı dolu bir boşluk olan hücre kütlesi -blastosist -olarak uterus girer. Beşinci günde, blastosist içinde sıvı biriktikçe ve hücrelerde polarizasyon meydana gelir. Blastosist, plasenta ve fetal zarları oluşturacak bir dış hücre katmanına (trofoblast), embriyoyu oluşturacak kutupta bir iç hücre kütesine (embriyoblast) ve sıvı dolu bir boşluğa sahiptir. Hücre kütleleri çoğalır ve sıvı boşluğu genişler. Başlangıçta oksijen ve metabolik substratlar uterus sekresyonlarından temin edilir; ancak bu büyümeye devam eden hücre kütlesi nedeniyle kısa sürede yetersiz hale gelir. Bu nedenle 6. gün, blastosist, sürekli büyüme için gerekli substratlara (glikojen dolgu stromal hücreler) erişebilmek için uterus duvarına implante olur.

İmplantasyon süreci, blastosistin uterus içerisinde anatomik olarak en uygun konuma hareketini, adezyonunu ve invazyonunu içerir. Trofoblastik hücreler proteolitik enzimler yardımıyla desiduanın derinliklerine doğru ilerlerken, vakuoller oluşur ve bu vakuoller 13. günde laküna oluşturmak için birleşir. Laküner boşluk, nihayetinde içerisinde uzanan villöz dallanmalarla aralıklı boşluk haline gelir.

İmplantasyondan sonra trofoblastlar, sinsityotrofoblast ve sitotrofoblast olarak ikiye ayrılır; ikisi birlikte plasantanın fetal komponentini oluşturur. Sinsityotrofoblast tabakası arasında bulunan laküna, maternal dolaşım ile bağlantı kurmak üzere oluşur. Lakünayı sütunlarla bölen trabeküler hücreler uterus derinliklerine uzanır ve daha sonra plasantanın villöz ağaçlarına dönüşür. Plasantanın maternal komponentini oluşturan endometriumun desidua bazalisinde ise maternal kan kaynağı yatmaktadır. Gebelik ilerledikçe, villus yapısı, maternal kan ve fetal damarlar arasındaki mesafeyi azaltmak için gelişir. Bu değişiklik, hem maternal hem fetal fayda sağlar (19).

Progenitor sitotrofoblast hücresi, plasantanın kök hücresidir. Bu hücreler, farklılaşarak villöz sitotrofoblast (sinsityotrofoblast [dış hücresel katman]) ve ekstravillöz sitotrofoblast (iç hücresel katman-EVT) olarak ayrılırlar. Sinsityotrofoblast tabakası, gaz değişimini, besin maddelerinin emilimini, atık ürünlerin uzaklaştırılmasını sağlayan ve plasental, fetal, maternal sistemleri düzenleyen çeşitli peptid veya steroid yapıdaki hormonların sentezini gerçekleştiren özel bir epiteldir.

Hemokoryal plasentanın gelişimi, endometrium ve spiral arterlerin invazyonuna bağlıdır. Gebeliğin 4-5. haftalarında, ekstrasvillöz sitotrofoblastlar, proliferatif trofoblast ve invaziv trofoblast olarak ayrışır. Desidual tabakayı istila eden sitotrofoblastlar, interstisyel EVT olarak adlandırılırken, spiral arterleri istila eden ve yeniden şekillendiren sitotrofoblastlar, endovasküler EVT olarak adlandırılır. Gebeliğin erken döneminde endovasküler trofoblastlar, spiral arterlerin lümenine girerek başlangıçta bir tıkaç oluştururlar. Bu süreç düşük oksijen durumunda olmaktadır ve hipoksi, invaziv trofoblast aktivasyonunu uyarak invazyona katkıda bulunmaktadır. İnterstisyel trofoblastlar desidua ve myometriuma geçerek plasental yatakta spiral arterlerin etrafına toplanarak, invazyonu kolaylaştırmaya yardımcı olurken; endovasküler trofoblastlar apoptozis ile damar endotelini harap ederek media tabakasını invaze eder ve değiştirir. Spiral arterlerin media tabakasında düz kas ve bağ doku yerini fibrinoid maddeye bırakır. Spiral arterler daha sonra endotellerini yeniler. Yeniden yapılanma ile kas içindeki dar lümenli spiral arterler, genişleyerek düşük dirençli hale gelmiş uteroplazental damarlara dönüşür. Genişleyen spiral arterler ve endometriyal damarlar arasındaki anastomozlar sayesinde kanı laküner sistemin düşük dirençli vasküler ağına dağıtan ve böylece uteroplazental dolaşımı sağlayan maternal sinüzoidler oluşur (20).

İnvazyon sırasında EVT, farklılaşmayı ve istilayı düzenleyen spesifik proteinleri ekspresse eder. Bunlar arasında integrin, hücre dışı matris antijenleri, matriks metalloproteinazlar (MMP'ler) ve dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF-beta), vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), VEGF reseptörleri ve insülin benzeri büyüme faktörü gibi sinyal iletim proteinleri bulunur.

Desidua ve myometriyum istila etmek için EVT, MMP proteaz ailesinin birkaç üyesini kullanarak hücre dışı matriksi bozmalıdır. Bu MMP'lerin aktivitesi, doku inhibitörleri (TIMP'ler) tarafından düzenlenir. Tüm MMP'lerin bir inhibitörü olan TIMP-1 ve TIMP-2, desidual hücrelerde ve EVT'lerde bulunmuştur. Desidua, trofoblast istilasını modüle eden lokal olarak etkili faktörleri (sitokinler, proteaz inhibitörleri) salgılayarak EVT istilasını düzenler (21).

Blastokist invazyonu daha da derinleşirken, sinsityotrofoblastlar ile çevrili EVT, solid primer villusları oluşturur. Fertilizasyon sonrası 12. günde, sinsityotrofoblastlara

uzanan ve primer sinsityum yüzeyinde çıkıntı yapan sitotrofoblast tomurcukları, lakünler birleştikçe karmaşık bir labirent oluşturur. Solid sellüler trofoblastik kordonlar primer villusları, 12. günden sonra ekstraembriyonik mezoderminden köken alan mezenkimal kordlar trofoblast kolonlarını invaze ederek sekonder villusları, mezenkimal nükleuslar da anjiogenezis gerçekleştikten sonra tersiyer villusları oluşturur. Ortalama 17. günde fetal kan damarları işlev kazanır ve plasentanın dolaşımı başlar. Fetal-plasental dolaşım ,embriyonun kan damarları koryonik damarlarla bağlantıya geçince tamamlanmış olur (20).

Plasental villus gebelik boyunca olgunlaşır. Gebeliğin yaklaşık 17. haftasında plasenta ve fetüsün ağırlıkları birbirine eşittir. Terme ulaştığında plasentanın ağırlığı, fetüsün ağırlığının yaklaşık altıda biri kadardır. Matür plasentanın maternal yüzünde lob diye adlandırılan, hafifçe yükselmiş konveks bölmelerin sayısı 10-38 arasında değişmektedir. Bu loblar plasental septa ile farklı derinliklerle bütünüyle olmasa da birbirinden ayrılır. Lobların toplam sayısı, gebelik süresince aynı kalır ve son haftalarda daha yavaşça da olsa her lob büyümeye devam eder. Bu lobüllerin her biri primer villüsler tarafından beslenen fonksiyonel ünitelerdir (20).

Plasental vasküler ağda tromboz oluşumu gebelik kaybına neden olabilir (22). Intervillöz boşlukta düşük hızdaki kanın stazını ve pıhtılaşmasını önlemek için, trofoblastlar aktif olarak antiagregan maddeler (ADPase, nitrik oksit ve karbon monoksit) salgılar (23). Trofoblast yüzeyi ayrıca antikoagülan aktiviteye sahiptir. Trofoblast yüzeyinde negatif yüklü fosfolipidler eksprese edilir ve bunlar pıhtılaşmanın intrensek yolağını aktive edebilir. Ca^{2+} /fosfolipid bağımlı protein ailesinin bir üyesi olan Annexin A5, plasentanın villöz trofoblastında negatif yüklü bu fosfolipidlere bağlanarak tromboz ve homeostazın düzenleyicisi olarak burada koruyucu bir bariyer oluşturan bir antikoagülan görevi görür (24).

İlk trimester sonuna gelindiğinde, plasenta morfolojisi büyük ölçüde tamamlanmıştır. Anormal plasentaları değerlendirebilmek içinse normal spektrumun iyi bilinmesi gereklidir. Villöz parankimal lezyonların çoğu fetal ve/veya maternal dolaşım değişiklikleri ile ilgilidir (16).

Plasental patoloji, yeterince kullanılmayan, yeterince anlaşılmayan ve yeterince ele alınmayan bir cerrahi alt uzmanlık alanı olmaya devam etmektedir. Obstetri uzmanları tarafından tıbbi açıdan zorlayıcı durumlardaki gebeliklerde plasental patoloji talepleri hızla artmaktadır. Plasentanın doğru değerlendirilmesi, hem fetüs / bebek hem de anne ile ilgili soruların ve konuların iyi anlaşılmasını gerektirir. Plasental patolojiden elde edilen bilgiler, erken yenidoğan bakımında ve aile için üreme planlamasında kritik olabilir ve risk değerlendirmesini sağlayabilir (17).

2.2. Erken Gebelik Kayıpları ve Habitüel Abortus

Erken gebelik kayıpları, kadınlar için reproduktif dönemin en yaygın sorunlarından biridir. Spontan abortus gebeliğin en sık görülen komplikasyonu olup, herhangi bir müdahale olmaksızın, klinik olarak suprapubik ağrı ve uterus kramplara eşlik eden vajinal kanama ile fetüs ve eklerinin tamamının veya bir kısmının kendiliğinden uterus atılması, gebeliğe dair bulgu ve belirtilerin etiyolojide rol oynayabilecek farklı nedenlerle kaybedilmesi olarak tanımlanır (25).

On ikinci gebelik haftasından daha küçük gestasyonel haftalarda gerçekleşen kayıplar erken abortus, 12.–20. gebelik haftaları arasında gerçekleşen kayıplar ise geç abortus olarak sınıflandırılmaktadır. Geniş bir etyolojik çeşitliliğe sahip olan spontan abortus görülme sıklığı %15–40 arasındadır. Spontan abortusların %62'si ise 12. gebelik haftasından önce gerçekleşmektedir. Wilcox ve ark., menstrüel döngü boyunca, idrarda ardışık olarak 3 gün insan koryonik gonadotropini (hCG) değerlerinin 0.025 ng/mL'nin üzerinde bulunmasını erken gebelik olarak değerlendirmişler ve klinik olarak tespit edilmeden gebeliklerin yaklaşık %30–50'sinin, klinik olarak tanı almış gebeliklerin ise yaklaşık %15'inin düşük ile sonuçlandığını bildirmişlerdir (26-28).

Abortus insidansını etkileyen faktörler arasında anne ve baba yaşları, kötü obstetrik öykü ve parental genetik nedenler gösterilebilir (29). Özellikle annenin 18 yaş altında veya 35 yaş üzerinde olması, önceki gebelik kayıplarının sayısı ile ilişkili olarak abortus riski artış göstermektedir. Otuz beş yaş üzerindeki kadınlarda oositlerin kromozomal yaşlanmasına bağlı olarak, nitelikli oositlerin azalmasıyla anöploidi oranının artışıdan dolayı abortus insidansında belirgin bir artış izlenmektedir. Klinik çalışmalara göre, abortus riski, kaybedilen her bir gebelikle beraber artar; yaygın

olarak 3 veya daha fazla sayıda abortus öyküsü olarak tanımlanan habitüel abortuslarda sonraki gebelik kaybı riskinin %30 ile 45 oranlarına kadar yükseldiği ve 5–6 abortus sonrasında insidansın %50'nin üzerinde olduğu görülmüştür (30, 31).

Tekrarlayan gebelik kaybı, en az iki ya da daha fazla gebeliğin ardışık olarak kendiliğinden sonlanması olarak tanımlanır. Tüm gebeliklerin %0,5–3'ünde görülür (32). Bazı yazarlar tarafından ise birbirini izleyen en az 3 veya daha fazla spontan abortus olarak tanımlanmaktadır (33). Tekrarlayan gebelik kayıpları, çiftlerin yaklaşık olarak %2'sini birçok yönden etkilemekte olan psikolojik, sosyal ve jinekolojik bir sorundur (34). Reprodüktif dönemdeki kadınların ise yaklaşık %1'inde görülmektedir. Tekrarlayan gebelik kayıplarının patogenezinde; genetik faktörler, yapısal uterin anomaliler, kalıtsal trombofililer, immünolojik nedenler, endokrin nedenler, enfeksiyöz nedenler ve çevresel faktörler suçlanmaktadır. Doğru ve sistematik klinik incelemelerden sonra dahi tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınların yarısında açıklayıcı bir neden saptanamamaktadır (35).

2.3. Erken Gebelik Kaybı Etyolojisi

2.3.1. Genetik nedenler

Kromozomal anomaliler, abortusların etiolojisinde en sık rastlanan neden olarak görünmektedir. On ikinci haftaya kadar yaşanan kayıpların %50'sinde, 12.–20. gebelik haftaları arasında gerçekleşen kayıpların %30'unda kromozomal anomali tespit edilmektedir (36, 37). Materyallere ait kromozom bozukluklarının %90'ını sayısal (anöploidi, triploidi, poliploidi) anomaliler oluştururken, geriye kalan %10'u yapısal anomaliler (translokasyon, inversiyon) ve mosaizmden kaynaklanmaktadır (38). Sayısal anomaliler içerisinde en sık karşılaşılan neden otozomal trizomiler (kromozom 13, 16, 22, 23) olup, sıralamayı monozomi X (45X) ve poliploidiler takip etmektedir (39).

Anne yaşı ve gebelik haftasına göre değerlendirildiğinde tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan çiftlerdeki kromozomal anomali sıklığı genel popülasyon ile benzer oranlarda izlenmektedir (39). Bununla birlikte, bu çiftlerin %4–8'inde fetüste kromozomal anomaliye neden olabilecek parental genetik faktörler ile karşılaşılmaktadır (40).

Tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili parental kromozom anomalilerinden en sık görüleni dengeli translokasyonlardır (41).

Reproduktif süreçte tek-gen veya poligenik faktörler, nadiren görülseler de tekrarlayan kayıplarında rol oynadıkları için önemlidirler. Bazı mutasyonların (Ehler-Danlos, Marfan, myotonik distrofi, homosistünüri, Wilson sendromu, orak hücreli anemi, disfibrinojenemi vs.) habitüel abortus yaşanmasına sebep olabileceği açıktır (42).

Habitüel abortus öyküsü olan hastalarda parental karyotip analizi ve konsepsiyon ürününün sitogenetik analizini içeren genetik araştırmaları en az üçüncü kez kayıp yaşayan çiftlerde öneren yönergeler bulunmaktadır (43). Drugan ve ark. ise iki abortus yaşayan hastalarda genetik inceleme yapılmasını önermişlerdir (44). Warburton ve ark. da abortus sonrası yapılan genetik danışmanın etkinliğini inceleyen çalışmalarında bir kez gebelik kaybı yaşayan hasta grubunda karyotip analizi yapılmasının maliyet-etkin olmadığını göstermişlerdir (44).

2.3.2. Anatomik nedenler

Anatomik nedenler habitüel abortusların %15'inden sorumlu tutulmaktadır. Anatomik nedenlerin bir kısmını müllerian anomali gibi konjenital sebepler oluştururken, bir kısmını uterin leiomyomlar, endometrial polipler, küretaj ya da enfeksiyonlar sonrası gelişen intrauterin adezyonlar gibi edinsel sebepler oluşturur.

Uterin septum, tekrarlayan gebelik kayıplarıyla ilişkili olarak görülen en sık konjenital anomali olup, aynı zamanda en kolay düzeltilebilen anatomik sorundur (45).

Bikornuat veya unikornuat uterusu sahip kadınların çoğunda obstetrik prognoz görece daha iyi olduğundan ve bu yapısal anomalilerin onarımı daha invaziv, komplikasyon riskinin ise fazla olmasından dolayı cerrahi rutin olarak önerilmemektedir.

Servikal nedenlerin başında gelen servikal yetmezlik ise spontan abortuslarda %0.2 sıklığında izlenirken, habitüel abortusların %8-15'inden sorumludur (46). Obstetrik öyküsünde 2. trimester gebelik kaybı olan, uygun kriterdeki kadınlarda cerrahi olarak serklaj tercih edilebilir.

Leiomyomların tekrarlayan gebelik kayıpları üzerindeki etki mekanizması bölgesel olarak kan akımının bozulmasıyla açıklanmıştır (47). Ancak uterin leiomyomların habitüel abortusa sebep olduğunu gösteren kesin kanıtlar bulunmamaktadır. Genel olarak submüköz myomlar tek ve boyutları küçük ise histereskopi ile myomektomi cerrahisi önerilebilir ancak risklerinin faydasından çok olması nedeniyle tartışma konusu olmaya devam etmektedir (48).

Endometriumun herhangi bir sebeple zedelenmesi intrauterin adezyonlara neden olabilir. İntrauterin adezyonlardaki habitüel abortus mekanizması fonksiyonel uterus hacminin azalması ve plasental yetersizliğe neden olabilecek endometrial fibrozistir (49). Küretajın en sık nedeni olarak spontan abortuslar öne çıkmaktadır. İntrauterin adezyonlar çoğunlukla abortus öyküsü sonrası edinsel olarak oluşurken, daha sonra intrauterin adezyonlar habitüel abortusa sebep olmaktadır (49).

İntrauterin adezyonların daha yaygın klinik prezentasyonu ise menstruel düzensizlikler ve/veya infertilitedir (50). İntrauterin adezyonlarda obstetrik prognoz çoğunlukla kötüdür ancak histereskopik adezyolizis ile bir miktar düzelme mümkün olmaktadır. Prognozu genellikle hastalık derecesi belirler.

2.3.3. Enfeksiyöz nedenler

Herhangi bir bakteriyel veya viral enfeksiyon sıklıkla asendan yoldan alt genital traktus ve uterusu yayılarak spontan abortusa sebep olabilir. Ancak enfeksiyöz ajanların habitüel abortusta rol oynadığına dair kesin kanıtlar bulunmamaktadır. Habitüel abortus öyküsü olan hastalarda enfeksiyonlar nadiren karşımıza çıkmaktadır. Enfeksiyonların gebelik kaybına neden olabileceği yönünde bilgiler mevcut olsa da çalışma sayısı azdır. Abortusa sebep olabilecek birçok organizma sıralansa da üzerinde fikir birliği sağlanmış bir ajan yoktur (51). Güncel literatür bilgilerine göre bu hasta grubunda rutin enfeksiyon taramasının yeri yoktur (25).

2.3.4. Çevresel faktörler

Çevresel faktörlerin gebelik üzerindeki etkileri konusunda yüksek kalitede kesin kanıtlar yoktur (25).

Sigara ve abortus arasında olası ilişkiyi inceleyen araştırmalarda sigara tüketiminin doza bağımlı olarak gebelik prognozu üzerinde negatif etkilerinin olduğu bildirilmiştir (52). Özellikle gebeliğin ilk on iki haftasında günde 10 adetten fazla sigara içmenin abortus riskinin 1,4 kat arttırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur (53).

Haftalık olarak ortalama 5 birim veya daha fazla alkol tüketimi ve günde 375 mg üzeri kafein tüketiminin de erken dönemde abortus insidansını arttırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur (54, 55). Gebeliğin ilk 8 haftasında alkol kullanımının spontan abortus ve fetal anomalilere sebep olabileceği gösterilmiştir (56). Bununla birlikte gebelik boyunca düşük miktarda alkol tüketiminin prospektif olarak incelendiği bir çalışmada ise abortus riski ile arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (57).

Kafein tüketimi ile abortus insidansı arasındaki bağlantıyı inceleyen çalışmalarda fazla miktarda kafein tüketiminin, spontan abortus riskini 2 kat arttırdığı izlenmiştir (55). Kafein tüketimi ve abortus ilişkisine kuşkulu yaklaşan araştırmalar da mevcuttur (58).

Diğer olası nedenlere yönelik çalışmalarda isotretinoin kullanımı, artmış spontan düşük insidansı ile ilişkili bulunmuştur (59). Güncel bilgilere göre, 5 Rad'ın altında bir radyasyon dozunda malformasyon, büyüme geriliği veya düşük açısından artmış bir fetal risk yoktur (60). Egzersiz programları ise abortus insidansını arttırmaz iken, yatak istirahati ve mobilizasyonun kısıtlanmasının habitüel abortus riski üzerinde etkisi olmadığı gösterilmiştir (61).

2.3.5. İmmunolojik nedenler

Habitüel abortusa neden olabilecek alloimmün mekanizmalar içinde; ilk olarak anne ve baba arasındaki insan lökosit anijeni (HLA) uyumu akla gelmekle birlikte maternal blokan antikor yokluğu da sebep olarak gösterilebilir (62). Bu mekanizmalar konsepsiyonel ürünün anne tarafından semiallojenik graft olarak tanınarak immünolojik reddine dayandırılmaktadır. Alloimmünizasyon taraması ve immünolojik nedenlere yönelik tedavinin gebelik prognozunu düzeltereğine dair kanıt yoktur. Prospektif bir çalışmada lökosit immünoterapisinin (annenin paternal lökositlerle immünizasyonu) klinikte katkısı olmadığı ve intravenöz immünglobulin (IVIG) tedavisinin etkinliğini de destekleyen geniş bir çalışma olmadığı göz önüne alındığında, tedavi yaklaşımında bu seçenekler güncel olarak önerilmemektedir (63).

Antifosfolipid sendrom dışında immünolojik nedenlerin habitüel abortusla güçlü bir ilişkisi bulunmamaktadır.

Habitüel abortus öyküsü bulunan kadınlarda, antifosfolipid antikor sendromunun insidansı % 7-25'tir (64). Vasküler tromboz ve/veya rekürren abortus dışında, intrauterin gelişme geriliği (IUGR), preeklampsi gibi obstetrik morbiditelere de yol açabilen ve anormal laboratuvar bulgusu olarak antifosfolipid antikor (APA) konsantrasyonlarının yüksek olduğu otoimmün bir hastalıktır. Uteroplasental dolaşımda tromboz oluşumuyla ve dolaşımda yüksek miktarda izlenen antikorların, trofoblastik hücrelerin spiral arterlere invazyonunu engelleyerek obstetrik prognoza etki ettiği düşünülmektedir. Kombine düşük doz aspirin ve heparin tedavi rejiminin APAS hastalarında abortus insidansını azalttığına dair bulgular mevcuttur (31, 64-66)

2.3.6. Koagülasyon sistemi bozuklukları

Kalıtımsal trombofililer habitüel abortus nedenleri içerisinde tedavi şansı mümkün olan hastalıklardandır. Sistemik trombozise ve rekürren abortusa neden olan bu hastalıklar, Faktör V Leiden mutasyonu, protein C rezistansı, protein C/protein S ve antitrombin III eksikliği, hiperhomosisteinemi, protrombin gen mutasyonu ve faktör 12 eksikliği olarak sıralanabilir (32, 66-68).

Kalıtsal trombofili sebepleri içerisinde en sık görülen Faktör V Leiden mutasyonu ve habitüel abortus arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur (69). Edinsel trombofili sebepleri arasında ise en sık olarak patogenezinde otoimmün faktörlerin de etkili olduğu; Sistemik Lupus Eritomatozus (SLE) ve Antifosfolipid sendrom (APAS) görülmektedir (66).

Habitüel abortus öyküsü bulunan hastalarda profilaktik olarak rutin aspirin tedavisinin faydalı olduğuna dair kesin bir bulgu yoktur (2). Çalışmalar heparinin aspirinden daha etkili, aspirin ve heparinle ikili tedavinin de ayrı ayrı uygulamalardan daha etkili olduğunu göstermiştir (4, 43, 70-72) Aspirin ve düşük moleküler ağırlıklı heparin ikili tedavisi geç dönemde gebelik kaybı yaşayan ve antifosfolipid sendromu (edinsel trombofili) birlikteliği olan hastalarda yararlı bulunmuştur (73). Tromboembolik öyküsü olmaksızın rekürren abortus geçiren hasta grubuna ve genetik trombofili tanımlı hastalara profilaksi amacıyla tedavi önerilmemelidir (43).

Gebeliğin sekizinci haftasına kadar uteroplasental kan akımının başlamadığı için trombofiliye bağlı trombozlar erken gebelik kayıplarını açıklayamamaktadır (74). Yapılan bir metaanaliz sonucuna göre trombofililerin ikinci trimester ve sonrasında geç dönem gebelik kayıplarıyla daha çok bağlantılı olduğu gösterilmiştir (75, 76) Sonuç olarak seçilmiş vakalarda trombofili taraması yapılmalıdır.

2.3.7. Endokrin faktörler

Spontan abortusların yaklaşık %10'unda endokrinolojik nedenler etkilidir. Diabet, tiroid disfonksiyonu, polikistik over sendromu (PKOS), luteal faz defekti, obezite ve hiperprolaktinemi artmış abortus insidansı ile ilişkili bulunmuştur (77).

Yapılan çalışmalar, insülin bağımlı hastalarda kan glukoz düzeyleri regüle tutulduğunda ilk trimester kayıplarının kontrol grubundan farklı olmadığını ancak, yüksek Hb A1c seviyelerinin olduğu kontrolsüz diabette spontan abortus riskinin arttığını göstermektedir (77, 78).

Hipotiroidi ve hipertiroidi de rekürren abortus nedenleri arasındadır. Sıklıkla medikal tedavi ile gebelik prognozunu güvenli ve kolayca düzelttiğinden dolayı bu hasta grubunda altta yatan nedeni bulmaya yönelik tetkikler arasına tiroid stimulan hormon (TSH) da eklenmelidir (79, 80).

Luteal faz defektinin erken dönem abortuslar ve infertilite üzerinde etkili olup olmadığı hakkında tartışmalı görüşler vardır. Tanı kriterlerinin standart olmaması, uygun medikal tedaviye rağmen anlamlı bir fayda izlenmemesi, tekrarlayan kontrollü çalışmalarda etiyolojideki olası rolünün kesinlik kazanamaması, luteal faz yetmezliğinin habitüel abortus patogeneğinde etkili bir rol oynamadığını düşündürmektedir (81). Bu nedenle olguların değerlendirilmesinde luteal faz yetmezliğine yönelik klinik test ve araştırmaların pratik uygulamada yer alması tavsiye edilmemektedir (82).

PKOS'lu olgularında, tekrarlayan gebelik kaybının mekanizması bilinmemektedir, ancak lüteinize hormon (LH), hiperandrojenemi ve insülin direnci ilişkisi olabilir (83). PKOS ve insülin direnci izlenen hastalarda metformin tedavisinin yararlı olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (84). Bununla birlikte, iyi tasarlanmış bir başka çalışma,

klomifen ile karşılaştırıldığında metforminin düşük insidansını azaltmada hiçbir yararı olmadığını göstermektedir ve böylece insülin direncinin gebelik kaybı üzerindeki rolü hakkında şüphe uyandırmaktadır (85). Klinik ve laboratuvar olarak PKOS açısından değerlendirme yapılması, obez hastalarda ilk basamak olarak kilo vermesi önerilebilir.

Hiperprolaktinemi, overlerden progesteron salınımını inhibe ederek (luteal faz yetmezliği oluşturarak) endometrial defektlere neden olabilse de habitüel abortus etiyolojisindeki rolü kesin olarak gösterilememiştir. Habitüel abortus ile birlikte hiperprolaktinemi öyküsü bulunan hastalarla yapılan randomize kontrollü bir çalışmada, bromokriptin ile tedavi edilmiş grupta daha yüksek gebelik oranları elde edilmiş olsa da sonuçları çelişki farklı çalışmalar mevcuttur (80,86).

Tüm bu multidisipliner detaylı klinik araştırmalara rağmen habitüel abortus öyküsü bulunan hastaların önemli bir kısmında (%40-50) herhangi bir neden gösterilemeyebilir (31). Açıklanamayan habitüel abortus öyküsü olan çiftlere, hiçbir tedavi uygulanmasa bile başarılı bir gebelik şansına sahip oldukları tekrar hatırlatılmalıdır (32).

2.4. Kisspeptinler

Kisspeptinler, *KISS1* geni (1q32) tarafından kodlanan bir nöropeptid ailesidir. Bu genin öncül ürünü 145 amino asit içeren *KISS1* proteinidir. *KISS1* geninin 54 amino asitlik ürünü metastin, meme kanseri ve melanoma metastazını baskılar, Kiss kelimesindeki “ss” takısı bu süpresör diziyi (suppressor sequence) ifade etmektedir (64, 75).

Kisspeptinin santral sinir sistemi ile birlikte testis, over, pankreas, barsaklar, karaciğer, kalp, akciğer, kas, böbrek ve en yoğun olarak da plasentada sentezlendiği gösterilmiştir (87). Kisspeptinlerin gebelikte major kaynağı plasentadır. Trofoblast implantasyonunu ve invazyonunu kontrol ettiği düşünülmektedir. Plasental kisspeptin-10'un kollajenaz aktivitesi ve ilk trimesterde trofoblast hücrelerin migrasyon ve invazyonu azalttığı gösterilmiştir (88). Gebe olmayan kadınlarda ve erkeklerde plazma kisspeptin konsantrasyonu düşüktür; ortalama kisspeptin konsantrasyonu 1,3 pmol/L olarak bulunmuştur. Gebelikte ise bu düzey önemli derecede artar; ilk trimesterde maternal plazmadaki ortalama kisspeptin düzeyi 1230 pmol/L, ikinci trimesterde 4590 pmol/L,

üçüncü trimesterde ise 9590 pmol/L olarak saptanmıştır. Postpartum 5. günde ise plazma kisspeptin düzeyinin (7,6 pmol/L) normale döndüğü bildirilmiştir. Üretiminin gebelikte çok erken başladığına dair kanıtlar vardır (89).

Kisspeptin reseptörü aracılığıyla etki eden kisspeptinin, gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) salınmasını uyardığı bilinmektedir. Hipotalamustaki nöronlar tarafından sentezlenen peptid yapıdaki Kisspeptin,pulsatil GnRH salınımı yanı sıra folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize hormon (LH) salınımını da düzenlemektedir (90).Pubertenin başlangıcında kisspeptinin etkili olduğu görülmektedir (91, 92). İnsanlarda, Kisspeptin hormonunu kodlayan *KISS1* genindeki veya Kisspeptin reseptörünü kodlayan *KISS1R* genindeki mutasyonlar, idiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm nedeniyle pubertal gelişimin olmamasına neden olur (93, 94).

Tüm bunlar Kisspeptinlerin plasentadan türetilmiş hormon olduğunu ve implantasyondan doğuma kadar üreme-nöroendokrin aks üzerinde önemli bir fizyolojik role sahip olduğunu düşündürmektedir.

Trofoblast invazyonu, tümör metastazına oldukça benzerdir. Kisspeptinler adezyonu uyarıp, hücrelerin bir arada kalmasını sağlayarak tümör metastazını sınırladığı gibi trofoblast invazyonunu da engeller (88). Tüm kisspeptinler arasında yüksek oranda bulunan Kisspeptin Kp-10, trofoblast invazyonunun düzenlenmesinde önemli rolü olduğunu düşündüren en güçlü invazyon inhibe edici etkilere sahiptir (95).

Plasenta tarafından üretilen kisspeptinlerin gebelikteki rollerinin araştırılması, implantasyon sürecini anlamamıza yardımcı olacak ve gebelik komplikasyonlarının tedavisinde yeni yaklaşımların oluşmasına katkıda sağlayacaktır (96).

2.4.1. Foliküler fazda Kisspeptin

Kisspeptin nöronları esas olarak preoptik alanda ve hipotalamik çekirdekte bulunur ve GnRH nöronlarının düzenleyicileri olarak etki eder (97). GnRH nöronlarının östrojen ve progesteron reseptörlerinden yoksun olması ve bu nedenle serum seks steroid konsantrasyonlarına doğrudan yanıt verememesi nedeniyle, bu düzenleyici yolaktaki molekülün Kisspeptin olduğundan şüphelenilmektedir (98, 99). Bu anatomik

bölgelerin her ikisinde de serum östrojen ve progesteron konsantrasyonlarının, kisspeptin aracılı GnRH sekresyonunu düzenlediği gösterilmiştir (100).

Foliküllerin gelişmediği erken foliküler fazda, kisspeptin seviyeleri düşüktür (101, 102). Zhai ve ark. baskın folikülün çapı 1.2 cm'ye ulaştığında kisspeptin düzeylerinin belirgin bir düzeyde arttığını göstermiştir (102). Periovulatuvar dönemde Kisspeptin seviyeleri yükselir ve baskın yumurtalık folikülünün gelişimini öngörme potansiyeline sahip olabilir (101-103). Dhillon ve ark. sağlıklı kadınlara ekzojen kisspeptinin uygulanmasının gonadotropin sekresyonunun artmasıyla sonuçlandığını göstermiştir; bu yanıt, yumurtlama öncesi fazda en güçlüdür (104).

Meczekalski ve ark. Kisspeptin ve LH'nin birlikte salgılandığını göstermiştir (100). Başka bir çalışma, kisspeptin reseptörünün (KISS1R) bloke edilmesinin, pulsatil LH sekresyonunu durdurduğunu göstermiştir (105). GnRH ve kisspeptin nöronları arasındaki bağlantıya dair topografik kanıtlar da vardır - birkaç türde, GnRH nöronal aksonlarının, kisspeptin nöronlarının bulunduğu arkuat çekirdekten, GnRH'nin salgılandığı medyan eminense kadar uzandığı gösterilmiştir (98). İnsan çalışmaları, bu nöroanatomiye tüm GnRH nöronları için göstermemiştir; ancak bu, insanlarda kisspeptin nöronal bağlantılarının daha karmaşık olmasından kaynaklanabilir (100, 106).

2.4.2. Ovulasyonda Kisspeptin

Döngünün ortasında, yumurtlama öncesi folikül tarafından salgılanan östrojen, sonunda GnRH nöronlarının pulsatil GnRH salgısından sürekli salgıya geçişini tetikler.

Yüksek konsantrasyonlarda GnRH'nin sürekli salgılanması 24 saatten fazla sürer ve hipofiz bezini yüksek seviyelerde LH salgılaması için tetikler (107). LH piki nihayetinde yumurtlamayı tetikleyen şeydir (108). LH artışı aynı zamanda evde yumurtlama tahmin etme kitlerinin de hedefidir (102). Bu ardışık hormon salınımı ilişkisinin öncelikle kisspeptin tarafından düzenlendiği düşünülmektedir; aslında, Kisspeptin bugüne kadar keşfedilen GnRH nöronlarının en güçlü aktivatörüdür (109). Foliküler faz sırasında yükselen östrojen seviyelerinin, Kisspeptin nöronlarını uyardığından şüphelenilmektedir, bu nöronlar daha sonra GnRH artışını başlatmak

için GnRH nöronlarını aktive etmektedir (108). Bunun aksine, Kisspeptini bloke eden bir monoklonal antikor uygulamasının sıçan modellerinde ovulasyonu önlediği gösterilmiştir (110).

Kisspeptinin periovulatuar/ovulatuar fazın bir biyobelirteç olarak yararlı olabileceği varsayılmaktadır (102). Bu klinik olarak faydalı olacaktır çünkü kisspeptin LH'den önce yükselir ve bu nedenle yumurtlama zamanını gerçekleşmeden önce tahmin edebilir. Zhai ve arkadaşlarına göre, Kisspeptin 11. günde, LH ise 14. günde yükseldiğinde ovulasyon olasılığı artar (102). Karşılaştırıldığında, Goto ve ark. bir kisspeptin antagonistinin uygulanmasının, yumurtalık foliküllerinin küçülmesine ve ovulasyonun gecikmesine neden olduğunu gösterdi (111).

2.4.3. Luteal fazda Kisspeptin ve İmplantasyon

Kisspeptin endometriumun epitelyal ve stromal hücrelerinde eksprese edilir, ancak myometriumda eksprese edilmez (112). Endometriumda Kisspeptin ekspresyonu proliferatif ve erken sekretuar fazlarda yoktur, ancak geç sekretuar fazda bol hale gelir (113, 114). Bu, implantasyon için endometriyal dokunun hazırlanmasında kisspeptinin potansiyel rolünü gösterir. Ekzojen kisspeptin uygulamasının, Kisspeptin eksprese eden trofoblast hücrelerinin uterus dokusunda bulunan kollajene yapışmasını güçlendirdiği gösterilmiştir (115). İmplantasyondan hemen sonra, kisspeptin düzeylerinin yükseldiği bilinmektedir; bu, desidualizasyon sürecinde kisspeptinin dahil olduğunu düşündürür (116).

Kisspeptin hücrel çoğalma ve büyümenin düzenlenmesindeki işlevi de plasantasyon sürecinin ayrılmaz bir parçasıdır. Erken plaseenta, trofoblastların istila ve göçünü kontrol altında tutmak için yüksek seviyelerde kisspeptin ifade eder (117). Kisspeptin, tümü trofoblast proliferasyonunda yer alan sinyal proteinleri olan kollajenazların, matris metalloproteinazların ve vasküler endotelyal büyüme faktörünün aktivitesini azaltır (88, 118). İnvazyon ve invazyonun önlenmesi arasındaki bu önemli ve hassas denge, plasantasyon sürecinin yanı sıra maternal uterin duvarın uygun şekilde yeniden şekillenmesi için esastır (115).

2.4.4. Gebelikte Kisspeptin

Maternal kisspeptin seviyeleri gebelik boyunca dramatik bir şekilde yükselir, doğumdan sonraki 15 gün içinde ise normale döner (112). β -hCG'den farklı olarak, kisspeptin seviyeleri istikrarlı bir şekilde yükselir ancak plato oluşturmaz (119). Maternal kisspeptinin birincil kaynağının plasenta dokusu olduğu ve maternal kisspeptin düzeylerinin canlı plasental doku hacmini yansıttığı düşünülmektedir (114, 120). Kisspeptin, plasenta invazyonu ve apoptoz ile ilişkisi nedeniyle gebelikte bir biyobelirteç olarak yararlı olabilir (121).

Jayasena ve ark. erken gebelik tespit edilen kadınlarda, spontan abortus gerçekleşen ve intrauterin gebeliği devam edenleri karşılaştırmış; maternal plazma kisspeptinin aborte eden kadınlarda önemli ölçüde daha düşük olduğunu göstermiştir (122). Bu çalışmada ayrıca maternal kisspeptin seviyeleri abortus riskini saptamada β -hCG'den daha yüksek tanısal performansa sahip bulunmuştur (122). Wu ve ark. tekrarlayan erken gebelik kaybı olan kadınların, intrauterin gebeliği devam eden kadınlara göre desidual kisspeptin ekspresyonunun azaldığını gösterdi (123). Yine Kavvasoğlu ve ark. yaptığı bir diğer çalışmada sağlıklı gebeliklere kıyasla aborte eden kadınlarda maternal kisspeptin düzeylerinin azaldığını göstermiştir (124). Sullivan ve ark. da maternal Kisspeptin düzeylerinin gebelik yaşı ve fetal canlılığın devamı ile pozitif korelasyon gösterdiğini doğruladı (119).

Ektopik gebelik durumunda Kisspeptinin büyük ölçüde azaldığı gösterilmiştir (125). Romero-Ruiz ve ark. ektopik gebeliği olan bireylerde kisspeptin seviyelerini araştırdı. Sağlıklı kontrollerde annede gebeliğin ilk üç ayında kisspeptin düzeylerinin kademeli olarak arttığını bulmuşlardır. Ancak dış gebeliği olanlarda kisspeptin seviyeleri baskılanmıştır. Kisspeptin ile β -hCG seviyeleri korelasyonunun, ektopik gebeliğin zamanında teşhisi için daha iyi bir modalite sağlayabileceğini öne sürmüşlerdir (125).

Kisspeptin ayrıca preeklampsi riski taşıyan kadınları belirlemede tanısal fayda sağlayabilir. Qiao tarafından yapılan bir çalışma, preeklampsik term gebeliklerin plasentalarının sağlıklı gebeliklere kıyasla önemli ölçüde daha düşük kisspeptin seviyeleri ifade ettiğini göstermiştir (126). Bu bulgular, sağlıklı gebe hastalara kıyasla preeklampsik hastalarda daha düşük *KISS1* ekspresyonu gösteren Farina ve ark. tarafından yeniden doğrulandı (127). Matjila ve ark. preeklampsik gebeliklerde

maternal serum kisspeptin seviyeleri ile plasental kisspeptin ekspresyonu arasındaki ilişkiyi araştırmışlar ve preeklampitik plasentaların yüksek kisspeptin ekspresyonu olduğunu, ancak düşük maternal kisspeptin seviyeleri gösterdiğini buldular (128). Hasta gruptaki plasentalarda yüksek kisspeptin ekspresyonunun trofoblast invazyonunu engelleyebileceği ve preeklampsisi gelişimine katkıda bulunabileceği tahmin edilmektedir (115, 128). Bu nedenle Kisspeptin, preeklampsisi riski hakkında öngörü sunma potansiyeline sahiptir.

2.4.5. İn-vitro fertilizasyonda Kisspeptin

Reproduktif sistem üzerindeki belirgin rolü nedeniyle, yardımcı üreme teknolojisinde biyolojik bir araç olarak kisspeptinin kullanımına ilgi vardır. Ekzojen kisspeptin, in-vitro fertilizasyon (IVF) uygulanan kadınlarda oosit olgunlaşmasını tetiklemek için kullanılmış ve çok düşük oranlarda over hiperstimülasyon sendromu (OHSS) geliştiği görülmüştür (120, 129). Oosit olgunlaşması, bir oositin metafaz I'den metafaz II'ye geçiş sürecidir; bu süreçte oosit dölleme yeteneğine sahiptir (129). Jayasena ve ark. tek bir kisspeptin bolusunun, IVF uygulanan kadınlarda oosit olgunlaşmasını indükleyen bir LH dalgası üretebildiğini gösterdi (120). Kisspeptin'i etkili bir olgunlaşma tetikleyicisi olarak etiketleyen ilk çalışma olduğu için bu önemli bir çalışmaydı. Kisspeptin şu anda GnRH sekresyonunun en güçlü uyarıcısı olarak kabul edilmektedir (130, 131).

OHSS, IVF tedavisi sırasında ciddi bir olumsuz olay olarak kabul edilir ve tipik olarak oosit olgunlaşması için tetikleyici olarak hCG kullanımı ile ilgilidir. Bu sendrom, plevral efüzyon, asit, böbrek yetmezliği ve ciddi vakalarda ölümle sonuçlanabilen aşırı vasküler geçirgenlik ile karakterizedir (129). Bu vasküler geçirgenlik, yumurtalıktan hCG aracılı vasküler endotelial büyüme faktörünün (VEGF) salınımının olumsuz bir etkisidir (132). Kisspeptinin, ovulasyon indüksiyonu için bir tetikleyici olarak kullanıldığında OHSS riskini önemli ölçüde azaltan yumurtalık VEGF üretimini doğrudan inhibe ettiği gösterilmiştir (133). Ayrıca, kisspeptin, bireyin kendi GnRH rezervlerine bağlı olarak bir LH artışını tetikleyen ve yumurtalıkları aşırı veya patolojik olarak uyarması olası olmayan endojen GnRH'yi serbest bırakmak üzere hareket eder (134).

3.HASTALAR VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı, Olguların Çalışmaya Dahil Edilme Ölçütleri, Grupların Oluşturulması

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenmiş, Kurulun 25/03/2021 tarih ve OMÜ KAEK 2021/139 nolu kararı ile çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olacağına karar verilmiş, kurul onayından geçen onam formları hazırlanmıştır. Çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Bu karar doğrultusunda ve gerçekleştirilen güç analizi neticesinde çalışmamız 60 gönüllü kadın hastanın katılımı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın amacı tam olarak açıklandıktan sonra hastalardan veya hasta yakınlarından bilgilendirilmiş yazılı onam alındı. Çalışma evrenini habituel abortus öyküsü olan ve olmayan gebe kadınlar oluşturmaktadır. Deney grubunda gönüllülerin çalışmaya dahil edilme kriterleri;

- Gönüllünün habituel abortus öyküsü olması,
- Gebeliği miada kadar ulaşarak canlı doğum yapmış olması,
- 18-40 yaş arasında olması,
- Vücut kitle indeksinin 30 kg/m^2 'den az olmasıdır.

Gönüllülerin çalışmaya dahil edilmeme kriterleri ise;

- Antifosfolipit sendromu saptanması,
- Tespit edilmiş uterin anomalisi bulunması,
- Bilinen genetik bir patolojiye sahip olunması,
- Herhangi bir uterin anomalisi, genetik patolojisi ve antifosfolipit sendromu nedeniyle hastanın abortusu olması,
- Maternal diyabet, hipertansiyon, böbrek ve karaciğer hastalığı bulunması,
- Gebelik takibinde preeklampsi, IUGR, gestasyonel diyabet gelişmesi olarak belirlenmiştir.

Çalışmaya dahil edilecek gönüllü sayısı gerçekleştirilen power analizi sonucuna göre belirlenmiştir. Power analizi sonuçlarına göre, deney grubunda habitel abortus öyküsü olan ve gebeliği terme ulaşan kişilere ait 20 plasenta örneği, ilaç+deney grubunda

habitel abortus öyküsü olan ve gebeliği boyunca düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) alarak terme ulaşan kişilere ait 20 plasenta örneği ve kontrol grubunda habitel abortus öyküsü olmayan ve terme ulaşan kişilere ait 20 plasenta örneği çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Plasenta Örneklerinin Toplanması

Çalışma kapsamında plasenta örnekleri, Mart-Haziran 2021 arasında OMÜ Kadın Hastalıkları ve Doğum Ana Bilim Dalı'na başvuran ve doğum yaptıktan sonra plasenta örneklerinde incelemenin yapılmasına olur veren gönüllü hastalardan toplanmıştır. Cerrahi işlem sonrası temin edilen plasenta örnekler, %4'lük formaldehit içerisinde konularak, işlemlerin yapılacağı güne kadar muhafaza edilmiştir.

3.3. Plasenta Örneklerinin Rutin Histolojik Doku Takip Prosedürleri ile Analize Hazır Hale Getirilmesi

Plasenta örneklerinden örnekleme standart bir uygulama ile gerçekleştirilmiştir. Her plasenta örneğinde, göbek bağına eşit mesafede, umbilikal kordun alt, üst, sağ ve sol taraflarında derinlikli olarak doku örnekleme yapılmıştır (Şekil 1). Örneklerin tamamı toplandıktan sonra, OMÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı'nda rutin histolojik doku takibi gerçekleştirilmiştir (Tablo 1).



Şekil 1. Plasenta dokusunda örnekleme işleminin gösterimi

Tablo 1. Dokuların histolojik rutin takip protokolü

İŞLEM	DOKU TAKİP MATERYALİ	SÜRE
Dehidratasyon	%70 alkol	2 saat
	%80 alkol	1 saat
	%96 alkol	2 x 1 saat
	%100 alkol	2 x 1 saat
Şeffaflandırma	Ksilen	2 x 15 dakika
Sertleştirme	Parafin (sıvı) (paraplast)	1 saat
		Bir gece
	Parafin (oda ısı)	2 x 1 saat
	Parafin (sıvı)	

Bu kapsamda örnekler 8 saat akar su altında yıkandıktan sonra %70'lik alkolde bir gece bekletilmiştir. Takiben, örnekler sırayla artan yüzdelerde alkole tabi tutulup (% 50, 70, 90 ve 100 /Sigma-Aldrich, ABD), 1 saat süresince 2 defa ksilene (Merck, Darmstadt, Almanya) konularak ve ardından parafinle muamele edilmiştir. Ardından doku, parafin bloklara gömülmüştür. Daha sonra pilot çalışmada, kesit sayısı ve kesit aralığı sistematik rastgele örnekleme ile belirlenmiştir.

Leica RM 2125RT (Leica, Nussloch, Almanya) model mikrotom ile kesitler alınmıştır. Doku takip işlemlerinden sonra elde edilen olan bloklar mikrotom aracılığı ile 5 µm kalınlığında kesilmiştir. Pilot çalışma neticesinde kesit örneklem aralığı belirlenmiştir. Uygun kesit örneklem aralığı ile sterolojik analizler için seri kesitler alınmıştır. Analizler için alınan kesitler Hematoksilen ve Eozin ile boyanırken, kesit örneklem aralıklarında ise immünohistokimyasal analizler için kesit alınmıştır.

3.4. Örneklerden Elde Edilen Kesitlerin Uygun Boyama Prosedürleri ile Boyanması

Alınan kesitler, dokudaki yapısal ve sayısal değişimleri histolojik olarak analiz etmek için Hematoksilen ve Eozin ile boyanmıştır. Bu kapsamda Tablo 2’de belirtilen protokol izlenmiştir.

Kesitler uygun bir şekilde boyandıktan sonra entellan ve lamel yardımı ile kapatılmıştır. Olympus BH2 model mikroskop ile görüntüleme ışık mikroskopik değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 2. Kesitlerin Hematoksilen ve Eozin ile boyanma protokolü

İŞLEM	DOKU TAKİP MATERYALİ	SÜRE
Deparafinizasyon	Ksilen	2 x 15 dakika
	%100 alkol	10 dakika
	%96 alkol	10 dakika
	%80 alkol	10 dakika
	%70 alkol	10 dakika
	Distile su	10 dakika
Boyama	Hematoksilen	3 dakika
	%70 alkol	30 saniye
	Eosin	10 saniye
Rehidrasyon	%70 alkol	10 dakika
	%80 alkol	10 dakika
	%96 alkol	10 dakika

	%100 alkol	10 dakika
	Ksilen	10 dakika
	Ksilen	10 dakika

3.5. Dokudaki Yapısal Değişikliklerin Değerlendirilmesi

Sistematik rastgele örnekleme yoluyla her plasental bloktan üç bölüm seçildi ve bölüm başına on iki mikroskop alanı yakalandı (20x hedef). Her kesit 40'lık büyütmede mikroskop altında (Olympus BH2 mikroskobu Olympus, Tokyo, Japonya) görüntülenerek ve bu görüntü mikroskopa sabitlenen kamera yardımı (F10 CCD dijital kamera Panasonic, Osaka, Japonya) ve görüntüleme programı (Pinnacle görüntüleme yazılımı Studio MovieBox Plus 710, Hollanda) ile bilgisayar ekranına yansıtıldı. Ekranda görüntülenenen kesit üzerinde, pilot çalışma ile örnekleme adımı belirlendi ve buna uygun olarak ekran görüntüleri bilgisayar hafızasına kaydedildi. Kaydedilen bu görüntüler, kalibrasyon ayarı yapılmış olan ImageJ programı (NIH Software, Bethesda, MD, USA) ile analiz edildi (Şekil 2). Tüm dilimlerden elde edilen görüntülerin gruplar arasında karşılaştırma yapılması sonucu, plasentadaki yapısal değişimler değerlendirildi.

3.6. İmmünohistokimyasal Analizler

Kesit alımı esnasında immünohistokimyasal boyama için de kesitler alınarak ve bu kesitler alınmıştır. Hücre proliferasyonunun kantitatif tespiti için çoğalma markeri olan Ki-67 ve apoptozisin kantitatif tespiti için apoptoz markeri olan BCL-2 antikori ile işleme tabi tutulmuştur. Ayrıca, kisspeptin ve kisspeptin reseptörler belirteçleri olan antikori da kullanılmıştır.

Kesitler pozitif şarjlı lamlara alınarak immünohistokimyasal boyama prosedürü için deparafinize edilecektir. 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) kullanılacaktır. Deparafinizasyon sonrası;

1. Kesitler, sırasıyla %100, %96, %80, %70 lik alkoller kullanılarak 5'er dakika süresince dehidrate edildi.
2. Havada kurutulduktan sonra PAP pen ile işaretlendi.
3. Dokudaki endojen peroksidaz, %3 lük H₂O₂ solüsyonunda bekletilerek inaktive edildi.
4. Ardından, mikrodalga fırında kesitler sitrik asit tampon içerisinde kaynatılarak antijen retrieval işlemi sağlandı.
5. 10 dakika fosfat tamponu (Phosphate Buffered Saline, PBS) ile yıkanan kesitlere 5 dakika boyunca oda sıcaklığında, Ultra V blok uygulandı.
6. Kesitler üzerine ilgili primer antikorlar uygulanarak (50'şer µl) 1 gece +4°C'de bekletildi. Primer antikorların dilüsyonunda PBS kullanıldı.
7. Primer antikorlarla reaksiyon sağlandıktan sonra PBS ile yıkanan kesitler biotinli sekonder antikor ile 10 dakika boyunca muamele edildi.
8. Sonrasında kesitle Streptavidin Peroksidaz ile 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
9. Son kez PBS ile yıkanan kesitler DAP ile boyanarak mevcut reaksiyon gösterildi. Antijen lokalizasyonunun açık bir şekilde tespiti için zıt boyamalarda Mayer's Hematoksilen kullanıldı.
10. Kesitler akarsuda yıkanarak kapatıldı.

İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesinde H-skorlama yöntemi kullanıldı (Şekil 2). Bu kapsamda, (3 x güçlü boyanan çekirdeklerin yüzdesi) + (2 x orta derecede boyanan çekirdeklerin yüzdesi) + (1 x zayıf boyanan çekirdeklerin yüzdesi) hesaplanacak ve 0 ila 300 aralığında bir değer elde edildi (135).



Şekil 2. Plasenta görüntüsü üzerinde immünohistokimyasal analizin gösterimi

3.7. İstatiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

İstatiksel değerlendirmeler iki kategoride; bağımlı ve bağımsız değişkenler olarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmadan elde edilen nicel verilerin istatiksel analizinde SPSS programı (SPSS), version 25.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır ve $p < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. $p < 0,01$ olan değerler ise istatistiksel olarak ileri düzeyde ve $p < 0,001$ olan değerler ise istatistiksel olarak çok ileri düzeyde anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin normal dağılım gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiştir.

Her olgudaki uygulama öncesi ve sonrası farklılıkların istatistiksel olarak değerlendirilmesi için normal dağılıma uyduğu tespit edilen sayısal değişkenlerin karşılaştırmasında, parametrik testlerden ANOVA testi Tukey doğrulaması kullanılmıştır.

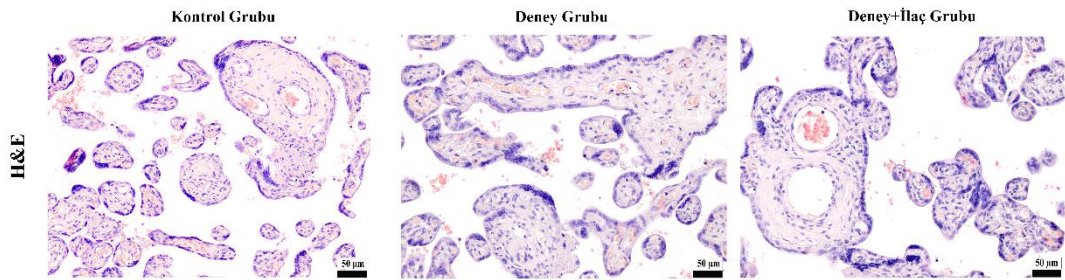
4.BULGULAR

Çalışmaya toplam 40 hasta ve 20 kontrol olmak üzere 60 gebe alındı. Çalışmaya alınan olgular; açıklanamayan habitüel abortus öyküsü bulunup gebelik boyunca medikasyon almadan miada ulaşan hastalar (deney), açıklanamayan habitüel abortus öyküsü bulunup gebelik boyunca düşük moleküler ağırlıklı heparin tedavisi altında miada ulaşan hastalar (ilaç+deney) ve kontrol grubu olarak herhangi bir kötü obstetrik öyküsü bulunmayan, miada ulaşan sağlıklı gebeler (kontrol) grupları olmak üzere üç ayrı grup halinde incelendi. Hasta grubunda 40, kontrol grubunda 20 olgu yer almaktadır.

Çalışmamızda gruplar arasında ortalama anne yaşı, bebek doğum ağırlığı ve gebelik haftası açısından anlamlı bir farklılık yoktu. (Tablo 3).

Tablo 3. Çalışma popülasyonunun demografik karakteristiği

	Kontrol Grubu	Deney Grubu	İlaç+Deney Grubu
Yaş	27.2 ± 5.4	29.9 ± 5.1	28.2 ± 5.7
Doğum ağırlığı	3422.6 ± 369.4	3241.9 ± 374.8	3253.9 ± 396.4
Gestasyonel yaş	37.6 ± 1.2	37.7 ± 1.3	37.8 ± 1.3



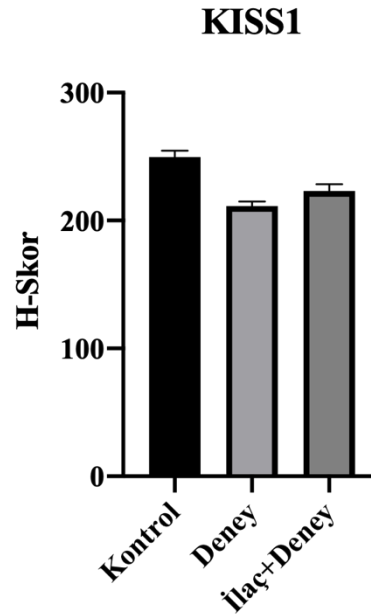
Şekil 3. Kesitlerin Hemotoksilen Eozin ile boyalı görüntüsü

KISS1 belirteci açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür. KISS1 ifade düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde ifade edildiği görülürken, deney grubunda en düşük düzeyde ifade edildiği saptanmış ve ilaç kullanan grupta göreceli olarak yükseldiği gözlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, kontrol ve deney grubu arasında çok ileri düzeyde istatistiksel farklılık,

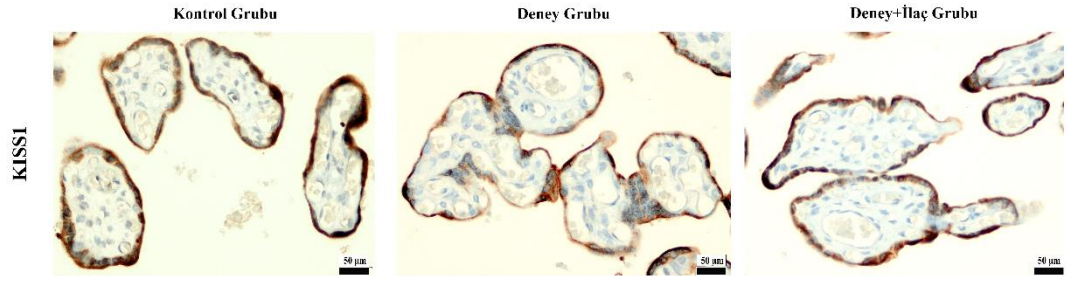
kontrol ve ilaç+deney grubu arasında ileri düzeyde istatistiksel fark gözlenirken, deney ve ilaç+deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tablo 4. KISS1 ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirilmesi

Tukey's karşılaştırma testi	çoklu Ortalama fark	95,00% CI	P değeri
Kontrol vs. Deney	38,25	19,25 - 57,25	0,0009
Kontrol vs. İlaç+Deney	26,50	7,498 - 45,50	0,0092
Deney vs. İlaç+Deney	-11,75	-30,75 - 7,252	0,2480



Şekil 4. KISS1 ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata)

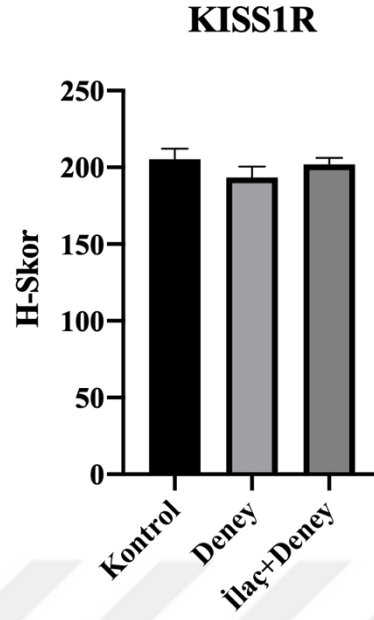


Şekil 5. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen KISS1 görüntüleri

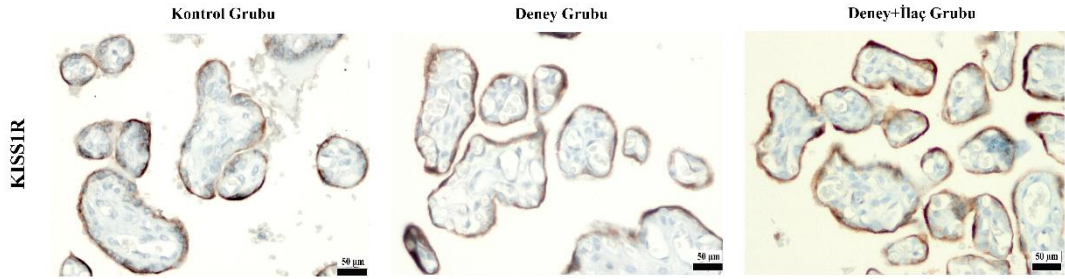
KISS1R belirteci açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, KISS1R ifade düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde ifade edildiği görülürken, deney grubunda en düşük düzeyde ifade edildiği saptanmıştır.

Tablo 5. KISS1R ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi

Tukey's karşılaştırma testi	çoklu	Ortalama	95,00% CI	P değeri
		fark		
Kontrol vs. Deney		11,75	-12,71 to 36,21	0,4094
Kontrol vs. İlaç+Deney		3,250	-21,21 to 27,71	0,9276
Deney vs. İlaç+Deney		-8,500	-32,96 to 15,96	0,6126



Şekil 6. KISS1R ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata)

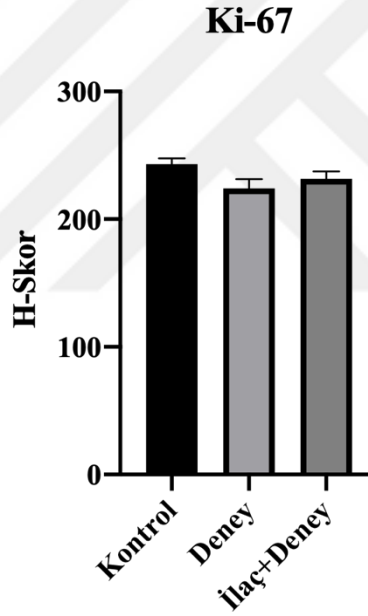


Şekil 7. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen KISS1R görüntüleri

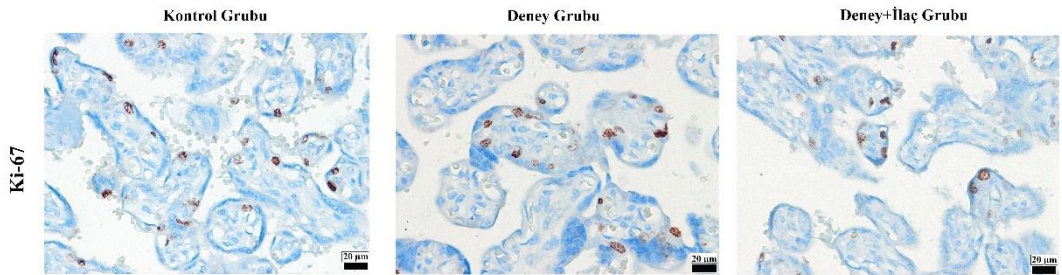
Ki-67 belirteçi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen, Ki-67 ifade düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde ifade edildiği görülürken, deney grubunda en düşük düzeyde ifade edildiği saptanmıştır.

Tablo 6. Ki-67 ifade düzeylerinin istatistiksel değeri

Tukey's karşılaştırma testi	çoklu Ortalama fark	95,00% CI	P değeri
Kontrol vs. Deney	18,88	-4,869 - 42,63	0,1210
Kontrol vs. İlaç+Deney	11,38	-12,37 - 35,13	0,4110
Deney vs. İlaç+Deney	-7,500	-31,25 - 16,25	0,6645



Şekil 8. Ki-67 ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata)

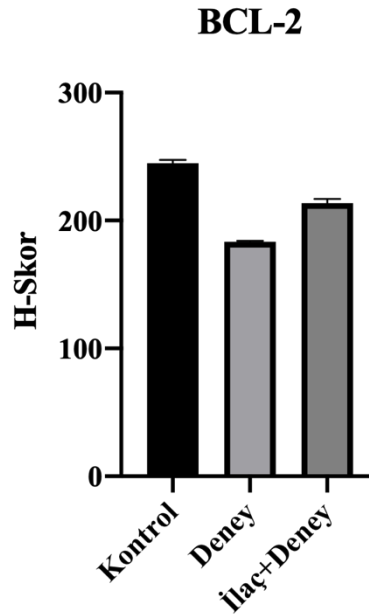


Şekil 9. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen Ki-67 görüntüleri

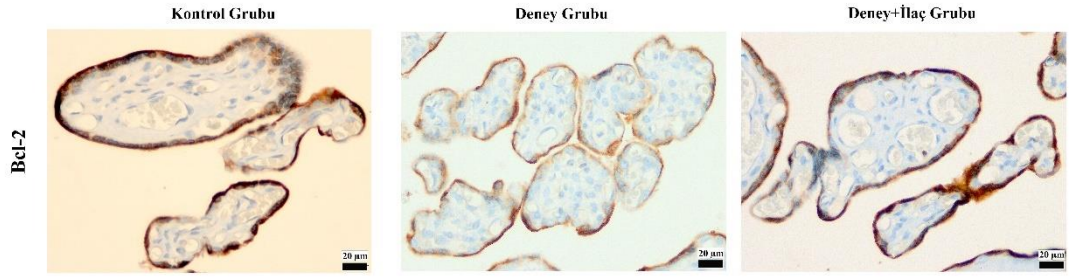
BCL-2 belirteci açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür. BCL-2 ifade düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde ifade edildiği görülürken, deney grubunda en düşük düzeyde ifade edildiği saptanmış ve ilaç kullanan grupta göreceli olarak yükseldiği gözlenmiştir. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, her grup arasında çok ileri düzeyde istatistiksel farklılık olduğu bulunmuştur.

Tablo 7. BCL-2 ifade düzeylerinin istatistiksel değerlendirmesi

Tukey's karşılaştırma testi	çoklu Ortalama fark	95,00% CI	P değeri
Kontrol vs. Deney	61,45	51,62 - 71,29	<0,0001
Kontrol vs. İlaç+Deney	31,21	21,37 - 41,05	<0,0001
Deney vs. İlaç+Deney	-30,25	-40,08 - -20,41	<0,0001



Şekil 10. BCL-2 ifade düzeyinin gruplar arası gösterimi (ortalama±standart hata)



Şekil 11. Kesitlerde immünohistokimyasal boyama ile izlenen Bcl-2 görüntüleri

5.TARTIŞMA

Erken ve spontan gebelik kayıpları, bilinen gebeliklerin %20'sini etkileyen en yaygın komplikasyondur (136, 137). Habitüel abortus, ardışık olarak 3 veya daha fazla sayıda gebeliğin 20 haftasından önce, 500 gr fetal ağırlığa ulaşmadan kendiliğinden sonlanmasıdır (1). Habitüel abortus, sıklık olarak çiftlerin %1-2'sinde görülürken, etiyolojisinde birçok faktör rol oynayabilir. Buna rağmen habitüel abortus öyküsü bulunan hastaların %40-50'sinde sebebin bulunamaması bu hasta grubunu önemli bir jinekolojik problem olarak karşımıza çıkarır (31).

Plasenta gebeliğin devamı için oldukça önemli bir organdır (9). Plasenta, habitüel abortusu olan hastalar üzerinde yapılan birçok çalışmada değerlendirilmiştir ve plasentadaki bazı patolojik durumların abortusa neden olduğu düşünülmektedir (7, 8).

Son on yıl içerisinde yapılan çalışmalar, kisspeptinlerin pulsatil GnRH salınımında, pubertenin başlamasında, gonadotropin salgılanmasında, ovulasyon ve doğurganlığın metabolik düzenlenmesinde temel rol oynadığını göstermiştir (131, 138). Gebelikte yüksek oranda eksprese edilen kisspeptinin esas kaynağını plasenta oluşturur. Plazma kisspeptin seviyeleri, gebelik komplikasyonlarının tespit ve takibinde potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilir (139).

Plasentadan üretilen hormonlar, pratikte klinisyenlerin gebelik sürecini yönetmesine yardımcı olmak için kullanılır. hCG'ye benzer şekilde hem *KISS1* hem de *KISS1R* plasentada yüksek oranda ifade edilir ve kisspeptinler insan plasenta materyallerinden izole edilebilir (140-142). Kisspeptin-54'ün ilk olarak 2003 yılında insan plazmasında bulunduğu ve gebelik boyunca arttığı gösterilmiştir (89). Elde edilen veriler, plazma kisspeptin seviyelerinin gebelik ile ilişkili hastalıkları öngörmek ve teşhis etmek için potansiyel bir belirteç olabileceğini düşündürmüştür (119, 122, 126).

Birkaç farklı çalışma, uterin ve plasenta bazlı periferik *KISS1/KISS1R* sinyal sisteminin gebeliğin başlıca düzenleyicilerinden olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmaktadır. Özellikle 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, ekstrasvillöz 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 kullanımı için umut verici görünmektedir (115).

Çalışmamızda *KISS1* ifade düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcutken, *KISS1R* ifade düzeylerinde arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. *KISS1* ifade düzeylerinin kontrol grubunda en yüksek düzeyde olduğu görülürken, deney grubunda en düşük düzeyde ifade edildiği saptanmış ve düşük moleküler ağırlıklı heparin kullanan grupta göreceli olarak yükseldiği gözlenmiştir. Gruplar arası *KISS1* ifade düzeyleri kontrol ve deney grubu arasında çok ileri düzeyde istatistiksel farklılık, kontrol ve ilaç+deney grubu arasında ileri düzeyde istatistiksel fark gözlenirken, deney ve ilaç+deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Literatürde bulunan kisspeptin immünohistokimyasal doku çalışmaları hem yöntem hem maliyet açısından zorlukları nedeniyle daha sınırlı sayıda olsa da çalışmamızda gösterdiğimiz rekürren abortus öyküsü olan hastalarda *KISS1* ifade düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olması yapılan önceki çalışmaları destekler niteliktedir (123, 143, 144). *KISS1R* ifade düzeylerinin çalışma ve kontrol grubunda farklılık göstermemesi de literatürü destekler niteliktedir (123, 145). Daha önceki çalışmalar bu hasta grubunda ilk trimester kayıplarına ait olup, çalışmamız habitüel abortus öyküsü olan hastalarda üçüncü trimestera ait yapılan ilk plasental çalışma özelliğine sahiptir.

Li ve ark. yaptığı vaka-kontrol çalışmasında, rekürren spontan abortus hastalarında hem trofoblastlarda hem de desiduada kisspeptin ifade düzeylerinin elektif abortus

olan sağlıklı gruba göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir. *KISS1*'in, anormal ifade düzeyinin trofoblast düzenlemesinin homeostazını bozan ve böylece gebelik kaybıyla sonuçlanan invazyon üzerine inhibitör etkili bir gen olarak hareket ettiği düşünülmüştür (143).

Wu ve ark. tarafından yapılan çalışmada ise rekürren abortus öyküsü olan kadınların ilk trimester kayıplarında ve sağlıklı kadınlarda ilk trimesterde elektif gönüllü terminasyonlarda immünohistokimyasal yöntemlerle desiduada *KISS1* ve *KISS1R* ifade düzeyleri ölçülmüştür. *KISS1* ifade düzeyi habitüel abortus grubunda sadece %53,1 iken, kontrol grubunda %88,6 olarak bulundu. *KISS1R* ifade düzeyleri ise desiduada çalışma ve kontrol grubunda farklılık göstermemiştir (123).

Colak ve ark. yaptığı prospektif vaka-kontrol çalışmasında rekürren abortus öyküsü olmadan erken gebelik kaybı yaşayanlar kadınlarda *KISS1* ifade düzeyleri elektif terminasyon yapılan kadınlarla karşılaştırıldığında anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (144).

Park ve ark. yaptığı immünohistokimyasal çalışmada da tekrarlayan gebelik kaybı olan kadınlarda ilk trimester plasental kisspeptin ekspresyon seviyeleri, elektif sonlandırılmış gebeliklerdeki kıyasla anlamlı olarak daha düşüktür. Kisspeptinin en fazla sinsityotrofoblastlarda, orta derecede sitotrofoblastlarda ve maternal desiduada ifade edildiği görülmüştür. Kisspeptin reseptörünün ifadesi ise sinsityotrofoblastlar ve desidua ile sınırlıydı. *KISS1R* ifade düzeyleri hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklılık göstermedi. Sitotrofoblastlarda her iki grupta kisspeptin reseptörü ifadesi izlenmedi. Kisspeptin ve reseptörünün diferansiyel ifadesi ve yerleşim paternleri otokrin ve parakrin etki mekanizmalarını düşündürmektedir (145). Bu sonuçlar, desiduada azalmış kisspeptin ifade düzeyleri ile rekürren spontan abortusların ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır.

Düşükler kayıpla sonuçlanmadan önce müdahale etmenin tek yolu  nlem almaktır. Düşük riskini erkenden teşhis edecek biyokimyasal belirteçler yararlı olacaktır (145). Serum kisspeptin düzeylerinin özellikle erken haftalarda abortus için belirteç olarak kullanımı yoğun ilgi çekmektedir. Serum kisspeptin ölçümlerinin güvenirliliği ve üstünlüğünü araştıran birçok çalışma mevcuttur. Sullivan-Pyke ve ark. tarafından

yapılan vaka kontrol çalışması, gebelik için serum kisspeptin ve hCG düzeylerinin karşılaştırılabilir tanısal değere sahip olduğunu, kisspeptin düzeylerinin erken gebelik canlılığı için yeni bir belirteç olarak kabul edilebileceğini göstermiştir (119).

Yu ve ark. yaptığı vaka kontrol çalışmasında kisspeptinin tek serum ölçümü gebe ve gebe olmayan kadınlarda önemli ölçüde değişmiştir. Kisspeptin ve beta-hCG serum düzeyleri korelasyon göstermektedir. Bununla birlikte, serum kisspeptin düzeylerinin ilk trimester gebelikte spontan abortusla sonuçlanan ve intrauterin devam eden gebelikler arasında ayırım yapamadığı görülmüştür. Tek veya ardışık kisspeptin ölçümü, erken evrede gebelik kayıplarında beta-hCG'den daha yüksek tanısal performans gösterememiştir. (146).

Jayasena ve ark. tarafından yapılan 993 hastanın dahil edildiği bir kohort çalışmasında Kisspeptinin, erken gebelik kaybı için beta-hCG'den daha yüksek bir tanısal performansa sahip olduğu ve tek bir plazma kisspeptin ölçümünün, 6 hafta veya daha büyük bir gebelikte düşük riski artmış asemptomatik gebe kadınları tanımlamak için plasenta fonksiyonunu temsil eden yeni bir unsur olduğu gösterilmiştir (122).

İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanan kadınlarda yapılan iki çalışmada ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemi ile serum kisspeptin seviyeleri değerlendirilmiş ve düşük kisspeptin düzeyleri implantasyon başarısızlığı ile ilişkilendirilmiştir. Erkek faktör infertilitesi olanlarla karşılaştırıldığında, açıklanamayan infertilite nedeniyle başvuran kadınlarda, serum kisspeptin seviyeleri ve ICSI'yi takiben implantasyon oranları anlamlı ölçüde daha düşük bulunmuştur (147). 176 hastanın dahil edildiği ikinci bir çalışmada, embriyo transferini takiben klinik gebelik elde edilemeyen kadınlarda, gebelik oluşanlara göre serum kisspeptin seviyeleri (ELISA ile ölçülen) anlamlı olarak daha düşük düzey bulunmuştur (148).

Kisspeptin serum düzeylerini farklı hasta gruplarında, özellikle gebelerde farklı trimesterlerde ve birçok obstetrik durumda incelemiş pek çok çalışma bulunmaktadır. Maliyet nedeniyle çalışmamızda eş 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 (89). Bununla birlikte, erken gebelik dönemi ve term dönem plasentasındaki *KISS1* mRNA ifade düzeylerinin anlamlı bir farklılık göstermediği ileri sürülmüştür (117). Ek olarak, iki bağımsız çalışmada, Kisspeptin-54 düzeylerinin erken dönem plasentada çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir (88, 149). Bu bilgiler göz önüne alındığında, plasentadaki *KISS1* ifade seviyelerinin, Kisspeptinin plazma seviyelerini yansıtmayabileceği görülmektedir.

Anormal plasantasyon (plasenta gelişimi), erken gebelik kayıplarının üçte ikisinde bulunur (150, 151). Kisspeptin en çok plasentanın sinsitiotrofoblast hücrelerinde eksprese edilir ve burada maternal invazyonu düzenleyebilir (88, 152). Yakın zamanda yapılan vaka-kontrol çalışmaları, plasenta gelişimi ile ilişkili olduğu düşünülen preeklampsi ve intrauterin büyüme geriliği olan kadınlarda, komplikasyonsuz gebeliklere kıyasla kisspeptin düzeylerinin azaldığını ileri sürdü (153, 154).

Armstrong ve ark. plasental disfonksiyonla ilişkili gebeliklerde, ikinci trimesterde maternal serumda kisspeptin seviyeleri daha düşük olduğunu göstermişlerdir (96). Smets ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada gebeliğin ilk trimesterında plazma kisspeptin seviyelerinin düşük olmasının düşük doğum ağırlığı ile ilişkili olduğu bildirildi (154). 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 olabileceğini düşündürmektedir.

Sinsitiotrofoblast, kisspeptinleri ve reseptörünü ifade ederken, ekstrasvillöz sitotrofoblast sadece trofoblast istilası üzerindeki baskılayıcı etkiye aracılık eden *KISS1R* reseptörünü eksprese ettiği ileri sürülmüştür (88). Kisspeptin kendine özgü reseptörü *KISS1R* aracılığı ile proapoptotik genlerin ekspresyonunu uyarır (155). Plasental apoptoz oranı villöz trofoblastların farklılaşmasında rol oynar ve gebelik haftası ilerledikçe fizyolojik olarak artar (156, 157). Apoptoz, antiapoptotik bir role sahip olan BCL-2 olan protein ailesi tarafından düzenlenir, burada BAX proapoptotik olarak zıt bir etki uygular (158). Bu iki molekül arasındaki oran, hücrenin hayatta kalmasını sağlar veya hücre ölümüne sebep olur (159).

Çalışmamızda antiapoptotik BCL-2 protein ifade düzeyi, kontrol grubunda en yüksek izlenirken, deney grubuyla kıyaslandığında ilaç+deney grubunda görece artmış seviyelerde bulunmuştur. Gruplar arası karşılaştırma yapıldığında, her grup arasında çok ileri düzeyde istatistiksel farklılık olduğu bulunmuştur. Bununla birlikte, bu çalışmada plasental proliferasyonu gösteren Ki-67 ifade düzeyi ile ilgili gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu.

Torricelli ve ark.'larının kisspeptinin apoptotik etkilerini anlamak amacıyla term elektif sezaryenlerden toplanan plasentalar steril şekilde diseke edilerek kültür ortamında sağlıklı gebe kadınlardaki plazma kisspeptin oranına uygun konsantrasyonda Kisspeptin-10 çözeltisinde bekletildi, oluşturulan ölçekte apoptotik çekirdekler önemli miktarda artış gösterdi (121). Bu bulgular ışığında, apoptoz ve gebelik yaşı arasında ve dolayısıyla plasentanın yapısal değişimlerinde kisspeptinin rolü olabileceği önesürülebilir (121). Ayrıca, erken doğumda, plasental *KISS1R* mRNA ifade düzeyi yükselir, bu da kisspeptinin doğuma yol açan mekanizmalarda da etkili bir protein olduğunu düşündürür (160).

Düşük molekül ağırlıklı heparin (DMAH) kullanımına odaklanan son çalışmalar, açıklanamayan habitüel abortusu olan hastalarda bu tedaviye başvurmak için yeterli kanıt olmadığını önesürdüler. Bu çalışmalarda gruplar arasında canlı doğum oranı ile ilgili istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (161, 162). Çalışmamızda tüm gruplarda miad canlı doğumlardan elde edilen plasentaları değerlendirmeye alarak tedavinin kisspeptin ifade düzeylerine olan etkisini incelemek istedik. Habitüel abortus öyküsü olan ve DMAH tedavisi alan ilaç+deney grubunda apoptotik, invazyonu sınırlayıcı, antimetastatik etkisi bilinen kisspeptin düzeylerinin tedavi almayan hastalara göre anlamlı artış gösterdiği görüldü. Kontrol ve deney grupları arası kisspeptin ifade düzeyleri anlamlı farklılık gösterse de deney ve ilaç+deney grupları arası istatistiksel fark yoktu. Çalışma grubu popülasyonumuz küçük olduğundan DMAH tedavisinin plasental apoptoz ve invazyon düzenlenmesi üzerinden etki edip etmediği hakkında net bir yorum yapılamadı.

6. SONUÇLAR

Kisspeptinler reproduktif çağıdaki kadınlarda birçok farklı mekanizma üzerinde etki göstermekte olduğundan, kisspeptinlerin plasental invazyon üzerinde tek yönlü bir sınırlayıcı etkiden çok invazyonu düzenleyen, dengede tutan, implantasyona ve plasentanın potansiyel kapasitesine ulaşmasına yardımcı moleküller oldukları düşünülebilir.

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, kisspeptinlerin gebelikte fizyolojik etkileri hala her yönüyle bilinmemekte olup anormal ifade düzeylerinin obstetrik komplikasyonlarla sıklıkla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Habitüel abortus öyküsü olan kadınlarda canlı doğumla sonuçlanan gebelik elde edilse dahi, kötü obstetrik öyküsü olmayan benzer özellikteki kadınlara göre kisspeptin ifade düzeylerinde farklılıklar devam ediyor görülmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 2006;21(9):2216-22.
2. Rai R, Backos M, Baxter N, Chilcott I, Regan L. Recurrent miscarriage--an aspirin a day? *Hum Reprod.* 2000;15(10):2220-3.
3. Haas DM, Ramsey PS. Progestogen for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008(2):CD003511.
4. Tulppala M, Marttunen M, Soderstrom-Anttila V, Foudila T, Ailus K, Palosuo T, et al. Low-dose aspirin in prevention of miscarriage in women with unexplained or autoimmune related recurrent miscarriage: effect on prostacyclin and thromboxane A2 production. *Hum Reprod.* 1997;12(7):1567-72.
5. Sebire NJ, Backos M, El Gaddal S, Goldin RD, Regan L. Placental pathology, antiphospholipid antibodies, and pregnancy outcome in recurrent miscarriage patients. *Obstet Gynecol.* 2003;101(2):258-63.
6. Sebire NJ, Fox H, Backos M, Rai R, Paterson C, Regan L. Defective endovascular trophoblast invasion in primary antiphospholipid antibody syndrome-associated early pregnancy failure. *Hum Reprod.* 2002;17(4):1067-71.
7. Boyd TK, Redline RW. Chronic histiocytic intervillitis: a placental lesion associated with recurrent reproductive loss. *Hum Pathol.* 2000;31(11):1389-96.
8. Redline RW, Zaragoza M, Hassold T. Prevalence of developmental and inflammatory lesions in nonmolar first-trimester spontaneous abortions. *Hum Pathol.* 1999;30(1):93-100.
9. Guven D, Altunkaynak BZ, Altun G, Alkan I, Kocak I. Histomorphometric changes in the placenta and umbilical cord during complications of pregnancy. *Biotech Histochem.* 2018;93(3):198-210.
10. Teasdale F. Idiopathic intrauterine growth retardation: histomorphometry of the human placenta. *Placenta.* 1984;5(1):83-92.
11. Mayhew TM, Bowles C, Orme G. A stereological method for testing whether or not there is random deposition of perivillous fibrin-type fibrinoid at the villous surface: description and pilot applications to term placentae. *Placenta.* 2000;21(7):684-92.

12. Geenes VL, Lim YH, Bowman N, Tailor H, Dixon PH, Chambers J, et al. A placental phenotype for intrahepatic cholestasis of pregnancy. *Placenta*. 2011;32(12):1026-32.
13. Vora S, Shetty S, Khare M, Ghosh K. Placental histomorphology in unexplained foetal loss with thrombophilia. *Indian J Med Res*. 2009;129(2):144-9.
14. Sebire NJ, Backos M, Goldin RD, Regan L. Placental massive perivillous fibrin deposition associated with antiphospholipid antibody syndrome. *BJOG*. 2002;109(5):570-3.
15. Wang Y, Zhao S. *Vascular Biology of the Placenta. Integrated Systems Physiology: from Molecules to Function to Disease*. San Rafael (CA)2010.
16. Elizabeth JH, B B. *Embryology, Placenta*. Treasure Island StatPearls Publishing; 2021.
17. Kaplan CG. Gross pathology of the placenta: weight, shape, size, colour. *J Clin Pathol*. 2008;61(12):1285-95.
18. Roberts DJ. Placental pathology, a survival guide. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132(4):641-51.
19. Vaishali K, C K. *Physiology, Placenta*. Treasure Island StatPearls Publishing; 2021.
20. Church LK. *Williams Obstetrics, 19th Edition - Cunningham,Fg, Macdonald,Pc, Gant,Nf, Leveno,Kj, Gilstrap,Lc*. J Nurse-Midwifery. 1994;39(1):51-2.
21. Victoria R, Myatt L. Placental development and physiology 2021 [Available from: https://www.uptodate.com/contents/placental-development-and-physiology?search=placenta&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1].
22. T FP, RM S, D WB. Pregnancy loss and antiphospholipid antibodies. In: MA K, editor. *Hughes Syndrome Antiphospholipid Syndrome*. London: Springer-Verlag; 2000.
23. Myatt L. Role of placenta in preeclampsia. *Endocrine*. 2002;19(1):103-11.
24. Krikun G, Lockwood CJ, Wu XX, Zhou XD, Guller S, Calandri C, et al. The expression of the placental anticoagulant protein, annexin V, by villous trophoblasts: immunolocalization and in vitro regulation. *Placenta*. 1994;15(6):601-12.

25. Deniz R, Baykuş Y, E.Ç K. Approach to Recurrent Early Pregnancy Loss. *Kafkas Journal of Medical Sciences*. 2016;6(2):130-7.
26. Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, Williamson E, Wood PJ. Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril*. 1982;38(4):447-53.
27. Wilcox AJ, Weinberg CR, O'Connor JF, Baird DD, Schlatterer JP, Canfield RE, et al. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med*. 1988;319(4):189-94.
28. PA J, T H. Chromosome abnormalities: origin and etiology in abortions and livebirths. In: F V, K S, editors. *Human Genetics*. Berlin: Springer-Verlag; 1987. p. 233-44.
29. Beksaç S, Demir N, Koç A, A Y. Erken gebelik problemleri ve düşükler. Ankara: Medikal & Nobel; 2001.
30. Clifford K, Rai R, Regan L. Future pregnancy outcome in unexplained recurrent first trimester miscarriage. *Hum Reprod*. 1997;12(2):387-9.
31. Gynaecologists RCoOa. The investigation and treatment of couples with recurrent miscarriage. 2003. Contract No.: 17.
32. Gynecologists ACoOa. Management of recurrent early pregnancy loss. 2001.
33. E A. The epidemiology of repeated abortion. In: RW B, F S, editors. *Early Pregnancy Loss: Mechanisms and Treatment*. London 1988. p. 9-17.
34. Roman E. Fetal loss rates and their relation to pregnancy order. *J Epidemiol Community Health*. 1984;38(1):29-35.
35. Stephenson MD. Frequency of factors associated with habitual abortion in 197 couples. *Fertil Steril*. 1996;66(1):24-9.
36. Hassold T, Chiu D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet*. 1985;70(1):11-7.
37. Kline J, Stein Z, Susser M, Warburton D. Induced abortion and the chromosomal characteristics of subsequent miscarriages (spontaneous abortions). *Am J Epidemiol*. 1986;123(6):1066-79.
38. Philipp T, Philipp K, Reiner A, Beer F, Kalousek DK. Embryoscopic and cytogenetic analysis of 233 missed abortions: factors involved in the pathogenesis of developmental defects of early failed pregnancies. *Hum Reprod*. 2003;18(8):1724-32.

39. Stephenson MD, Awartani KA, Robinson WP. Cytogenetic analysis of miscarriages from couples with recurrent miscarriage: a case-control study. *Hum Reprod.* 2002;17(2):446-51.
40. Phung Thi T, Byrd JR, McDonough PG. Etiologies and subsequent reproductive performance of 100 couples with recurrent abortion. *Fertil Steril.* 1979;32(4):389-95.
41. Daniel A, Hook EB, Wulf G. Risks of unbalanced progeny at amniocentesis to carriers of chromosome rearrangements: data from United States and Canadian laboratories. *Am J Med Genet.* 1989;33(1):14-53.
42. Byrne JL, Ward K. Genetic factors in recurrent abortion. *Clin Obstet Gynecol.* 1994;37(3):693-704.
43. Huchon C, Deffieux X, Beucher G, Capmas P, Carcopino X, Costedoat-Chalumeau N, et al. Pregnancy loss: French clinical practice guidelines. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016;201:18-26.
44. Berek S. Berek & Novak's Gynecology: Wolters Kluwer; 2004. 507-9 p.
45. Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update.* 2001;7(2):161-74.
46. Jewelewicz R. Incompetent cervix: pathogenesis, diagnosis and treatment. *Semin Perinatol.* 1991;15(2):156-61.
47. Vollenhoven BJ, Lawrence AS, Healy DL. Uterine fibroids: a clinical review. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990;97(4):285-98.
48. Fernandez H, Sefrioui O, Virelizier C, Gervaise A, Gomel V, Frydman R. Hysteroscopic resection of submucosal myomas in patients with infertility. *Hum Reprod.* 2001;16(7):1489-92.
49. PE P, MJ N. Reproductive potential of the anomalous uterus. *Seminars in Reproductive Endocrinology.* 1988;6(2):217-33.
50. Al-Inany H. Intrauterine adhesions. An update. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2001;80(11):986-93.
51. Summers PR. Microbiology relevant to recurrent miscarriage. *Clin Obstet Gynecol.* 1994;37(3):722-9.

52. Hughes EG, Brennan BG. Does cigarette smoking impair natural or assisted fecundity? *Fertil Steril*. 1996;66(5):679-89.
53. Chatenoud L, Parazzini F, di Cintio E, Zanconato G, Benzi G, Bortolus R, et al. Paternal and maternal smoking habits before conception and during the first trimester: relation to spontaneous abortion. *Ann Epidemiol*. 1998;8(8):520-6.
54. Cnattingius S, Signorello LB, Anneren G, Clausson B, Ekbom A, Ljunger E, et al. Caffeine intake and the risk of first-trimester spontaneous abortion. *N Engl J Med*. 2000;343(25):1839-45.
55. Rasch V. Cigarette, alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003;82(2):182-8.
56. Floyd RL, Decoufle P, Hungerford DW. Alcohol use prior to pregnancy recognition. *Am J Prev Med*. 1999;17(2):101-7.
57. Cavallo F, Russo R, Zotti C, Camerlengo A, Ruggenini AM. Moderate alcohol consumption and spontaneous abortion. *Alcohol Alcohol*. 1995;30(2):195-201.
58. Leviton A, Cowan L. A review of the literature relating caffeine consumption by women to their risk of reproductive hazards. *Food Chem Toxicol*. 2002;40(9):1271-310.
59. Schnorr TM, Grajewski BA, Hornung RW, Thun MJ, Egeland GM, Murray WE, et al. Video display terminals and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med*. 1991;324(11):727-33.
60. Brent RL. Utilization of developmental basic science principles in the evaluation of reproductive risks from pre- and postconception environmental radiation exposures. *Teratology*. 1999;59(4):182-204.
61. Obut M. Tekrarlayan gebelik kayıplarında etiyolojik nedenlerin değerlendirilmesi. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*. 2013;10(2):67-71.
62. Regan L, Braude PR, Hill DP. A prospective study of the incidence, time of appearance and significance of anti-paternal lymphocytotoxic antibodies in human pregnancy. *Hum Reprod*. 1991;6(2):294-8.
63. Ober C, Karrison T, Odem RR, Barnes RB, Branch DW, Stephenson MD, et al. Mononuclear-cell immunisation in prevention of recurrent miscarriages: a randomised trial. *Lancet*. 1999;354(9176):365-9.
64. Dhont M. Recurrent miscarriage. *Curr Womens Health Rep*. 2003;3(5):361-6.

65. Gynaecologists RCoOa. Immunological Testing and Interventions for Reproductive Failure. 2003 october.
66. G Y, R G, N Ç. Gebelik ve Hiperkoagülabilite. Gebelik ve Sistemik Hastalıklar. 1. İstanbul: Medikal&Nobel; 2002. p. 277-91.
67. 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.
68. Pauer HU, Burfeind P, Kosterling H, Emons G, Hinney B. Factor XII deficiency is strongly associated with primary recurrent abortions. *Fertil Steril*. 2003;80(3):590-4.
69. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, d'Addetta 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.
70. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *Am J Obstet Gynecol*. 1996;174(5):1584-9.
71. Lima F, Khamashta MA, Buchanan NM, Kerslake S, Hunt BJ, Hughes GR. A study of sixty pregnancies in patients with the antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1996;14(2):131-6.
72. Pattison NS, Chamley LW, McKay EJ, Liggins GC, Butler WS. Antiphospholipid antibodies in pregnancy: prevalence and clinical associations. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993;100(10):909-13.
73. Empson M, Lassere M, Craig JC, Scott JR. Recurrent pregnancy loss with antiphospholipid antibody: a systematic review of therapeutic trials. *Obstet Gynecol*. 2002;99(1):135-44.
74. Younis JS, Ohel G, Brenner B, Haddad S, Lanir N, Ben-Ami M. The effect of thrombophylaxis on pregnancy outcome in patients with recurrent pregnancy loss associated with factor V Leiden mutation. *BJOG*. 2000;107(3):415-9.
75. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet*. 2003;361(9361):901-8.

76. Sarig G, Younis JS, Hoffman R, Lanir N, Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril*. 2002;77(2):342-7.
77. Nardo LG, Rai R, Backos M, El-Gaddal S, Regan L. High serum luteinizing hormone and testosterone concentrations do not predict pregnancy outcome in women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2002;77(2):348-52.
78. Greene MF, Hare JW, Cloherty JP, Benacerraf BR, Soeldner JS. First-trimester hemoglobin A1 and risk for major malformation and spontaneous abortion in diabetic pregnancy. *Teratology*. 1989;39(3):225-31.
79. Allan WC, Haddow JE, Palomaki GE, Williams JR, Mitchell ML, Hermos RJ, et al. Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *J Med Screen*. 2000;7(3):127-30.
80. Kaur R, Gupta K. Endocrine dysfunction and recurrent spontaneous abortion: An overview. *Int J Appl Basic Med Res*. 2016;6(2):79-83.
81. Alataş E. Tekrarlayan gebelik kayıplarında tanı ve tedavinin yönlendirilmesi. 2004.
82. Porter TF, Scott JR. Evidence-based care of recurrent miscarriage. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005;19(1):85-101.
83. Wang JX, Davies MJ, Norman RJ. Obesity increases the risk of spontaneous abortion during infertility treatment. *Obes Res*. 2002;10(6):551-4.
84. Lord JM, Flight IH, Norman RJ. Metformin in polycystic ovary syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2003;327(7421):951-3.
85. Palomba S, Falbo A, Orio F, Jr., Zullo F. Effect of preconceptional metformin on abortion risk in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Fertil Steril*. 2009;92(5):1646-58.
86. Dlugi AM. Hyperprolactinemic recurrent spontaneous pregnancy loss: a true clinical entity or a spurious finding? *Fertil Steril*. 1998;70(2):253-5.
87. Kuohung W, Kaiser UB. GPR54 and KiSS-1: role in the regulation of puberty and reproduction. *Rev Endocr Metab Disord*. 2006;7(4):257-63.
88. Bilban M, Ghaffari-Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, et al. Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastatin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J Cell Sci*. 2004;117(Pt 8):1319-28.

89. 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.
90. Clarke H, Dhillon WS, Jayasena CN. Comprehensive Review on Kisspeptin and Its Role in Reproductive Disorders. *Endocrinol Metab (Seoul)*. 2015;30(2):124-41.
91. Lippincott MF, True C, Seminara SB. Use of genetic models of idiopathic hypogonadotropic hypogonadism in mice and men to understand the mechanisms of disease. *Exp Physiol*. 2013;98(11):1522-7.
92. Seminara SB, Crowley WF, Jr. Kisspeptin and GPR54: discovery of a novel pathway in reproduction. *J Neuroendocrinol*. 2008;20(6):727-31.
93. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(19):10972-6.
94. Topaloglu AK, Tello JA, Kotan LD, Ozbek MN, Yilmaz MB, Erdogan S, et al. Inactivating KISS1 mutation and hypogonadotropic hypogonadism. *N Engl J Med*. 2012;366(7):629-35.
95. 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.
96. 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.
97. Katulski K, Podfigurna A, Czyzyk A, Meczekalski B, Genazzani AD. Kisspeptin and LH pulsatile temporal coupling in PCOS patients. *Endocrine*. 2018;61(1):149-57.
98. Hrabovszky E. Neuroanatomy of the human hypothalamic kisspeptin system. *Neuroendocrinology*. 2014;99(1):33-48.
99. Leonardi CEP, Dias FCF, Adams GP, Araujo ER, Singh J. Kisspeptin induces ovulation in heifers under low plasma progesterone concentrations. *Theriogenology*. 2020;141:26-34.

100. Meczekalski B, Katulski K, Podfigurna-Stopa A, Czyzyk A, Genazzani AD. Spontaneous endogenous pulsatile release of kisspeptin is temporally coupled with luteinizing hormone in healthy women. *Fertil Steril*. 2016;105(5):1345-50 e2.
101. Latif R, Rafique N. Serum kisspeptin levels across different phases of the menstrual cycle and their correlation with serum oestradiol. *Neth J Med*. 2015;73(4):175-8.
102. Zhai J, Ding L, Zhao S, Li W, Sun Y, Su S, et al. Kisspeptin: a new marker for human pre-ovulation. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33(7):560-3.
103. Smith JT, Popa SM, Clifton DK, Hoffman GE, Steiner RA. Kiss1 neurons in the forebrain as central processors for generating the preovulatory luteinizing hormone surge. *J Neurosci*. 2006;26(25):6687-94.
104. Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, Ramachandran R, et al. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(10):3958-66.
105. Roseweir AK, Kauffman AS, Smith JT, Guerriero KA, Morgan K, Pielecka-Fortuna J, et al. Discovery of potent kisspeptin antagonists delineate physiological mechanisms of gonadotropin regulation. *J Neurosci*. 2009;29(12):3920-9.
106. Genazzani AD, Luisi M, Malavasi B, Strucchi C, Luisi S, Casarosa E, et al. Pulsatile secretory characteristics of allopregnanolone, a neuroactive steroid, during the menstrual cycle and in amenorrheic subjects. *Eur J Endocrinol*. 2002;146(3):347-56.
107. Caraty A, Antoine C, Delaleu B, Locatelli A, Bouchard P, Gautron JP, et al. Nature and bioactivity of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secreted during the GnRH surge. *Endocrinology*. 1995;136(8):3452-60.
108. Herbison AE, de Tassigny X, Doran J, Colledge WH. Distribution and postnatal development of Gpr54 gene expression in mouse brain and gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*. 2010;151(1):312-21.
109. Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J Neurosci*. 2005;25(49):11349-56.

110. Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, et al. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory luteinizing hormone surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology*. 2005;146(10):4431-6.
111. Goto Y, Endo N, Nagai K, Ohkura S, Wakabayashi Y, Tanaka A, et al. Ovarian and hormonal responses to follicular phase administration of investigational metastin/kisspeptin analog, TAK-683, in goats. *Reprod Domest Anim*. 2014;49(2):338-42.
112. 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.
113. Baba T, Kang HS, Hosoe Y, Kharm B, Abiko K, Matsumura N, et al. Menstrual cyclic change of metastin/GPR54 in endometrium. *Med Mol Morphol*. 2015;48(2):76-84.
114. Hu KL, Chang HM, Zhao HC, Yu Y, Li R, Qiao J. Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum Reprod Update*. 2019;25(3):326-43.
115. 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.
116. Zhang P, Tang M, Zhong T, Lin Y, Zong T, Zhong C, et al. Expression and function of kisspeptin during mouse decidualization. *PLoS One*. 2014;9(5):e97647.
117. 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.
118. 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.
119. Sullivan-Pyke C, Haisenleder DJ, Senapati S, Nicolais O, Eisenberg E, Sammel MD, et al. Kisspeptin as a new serum biomarker to discriminate miscarriage from viable intrauterine pregnancy. *Fertil Steril*. 2018;109(1):137-41 e2.
120. Jayasena CN, Abbara A, Comninou AN, Nijher GM, Christopoulos G, Narayanaswamy S, et al. Kisspeptin-54 triggers egg maturation in women undergoing in vitro fertilization. *J Clin Invest*. 2014;124(8):3667-77.

121. Torricelli M, Novembri R, Conti N, De Falco G, De Bonis M, Petraglia F. Correlation with placental kisspeptin in postterm pregnancy and apoptosis. *Reprod Sci.* 2012;19(10):1133-7.
122. Jayasena CN, Abbara A, Izzi-Engbeaya C, Comninou AN, Harvey RA, Gonzalez Maffe J, et al. Reduced levels of plasma kisspeptin during the antenatal booking visit are associated with increased risk of miscarriage. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(12):E2652-60.
123. Wu S, Zhang H, Tian J, Liu L, Dong Y, Mao T. Expression of kisspeptin/GPR54 and PIBF/PR in the first trimester trophoblast and decidua of women with recurrent spontaneous abortion. *Pathol Res Pract.* 2014;210(1):47-54.
124. Kavvasoglu S, Ozkan ZS, Kumbak B, Simsek M, Ilhan N. Association of kisspeptin-10 levels with abortus imminens: a preliminary study. *Arch Gynecol Obstet.* 2012;285(3):649-53.
125. Romero-Ruiz A, Avendano MS, Dominguez F, Lozoya T, Molina-Abril H, Sangiao-Alvarellos S, et al. Deregulation of miR-324/KISS1/kisspeptin in early ectopic pregnancy: mechanistic findings with clinical and diagnostic implications. *Am J Obstet Gynecol.* 2019;220(5):480 e1- e17.
126. Qiao C, Wang C, Zhao J, Liu C, Shang T. Elevated expression of KiSS-1 in placenta of Chinese women with early-onset preeclampsia. *PLoS One.* 2012;7(11):e48937.
127. Farina A, Sekizawa A, Purwosunu Y, Rizzo N, Banzola I, Concu M, et al. Quantitative distribution of a panel of circulating mRNA in preeclampsia versus controls. *Prenat Diagn.* 2006;26(12):1115-20.
128. Matjila M, Millar R, van der Spuy Z, Katz A. Elevated placental expression at the maternal-fetal interface but diminished maternal circulatory kisspeptin in preeclamptic pregnancies. *Pregnancy Hypertens.* 2016;6(1):79-87.
129. Abbara A, Clarke SA, Dhillon WS. Novel Concepts for Inducing Final Oocyte Maturation in In Vitro Fertilization Treatment. *Endocr Rev.* 2018;39(5):593-628.
130. Quaas AM, Legro RS. Pharmacology of medications used for ovarian stimulation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2019;33(1):21-33.

131. Roa J, Castellano JM, Navarro VM, Handelsman DJ, Pinilla L, Tena-Sempere M. Kisspeptins and the control of gonadotropin secretion in male and female rodents. *Peptides*. 2009;30(1):57-66.
132. Hunjan T, Abbara A. Clinical Translational Studies of Kisspeptin and Neurokinin B. *Semin Reprod Med*. 2019;37(3):119-24.
133. Zhai J, Liu J, Zhao S, Zhao H, Chen ZJ, Du Y, et al. Kisspeptin-10 inhibits OHSS by suppressing VEGF secretion. *Reproduction*. 2017;154(4):355-62.
134. Abbara A, Jayasena CN, Christopoulos G, Narayanaswamy S, Izzi-Engbeaya C, Nijher GM, et al. Efficacy of Kisspeptin-54 to Trigger Oocyte Maturation in Women at High Risk of Ovarian Hyperstimulation Syndrome (OHSS) During In Vitro Fertilization (IVF) Therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(9):3322-31.
135. Ishibashi H, Suzuki T, Suzuki S, Moriya T, Kaneko C, Takizawa T, et al. Sex steroid hormone receptors in human thymoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(5):2309-17.
136. Savitz DA, Hertz-Picciotto I, Poole C, Olshan AF. Epidemiologic measures of the course and outcome of pregnancy. *Epidemiol Rev*. 2002;24(2):91-101.
137. Gynecologists RCoOa. National institute for health and clinical excellence: guidance. Ectopic pregnancy and miscarriage: diagnosis and initial management in early pregnancy of ectopic pregnancy and miscarriage. 2012.
138. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev*. 2012;92(3):1235-316.
139. Hu KL, Zhao H, Yu Y, Li R. Kisspeptin as a potential biomarker throughout pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2019;240:261-6.
140. 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.
141. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem*. 2001;276(31):28969-75.

142. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001;411(6837):613-7.
143. Li L, Tian J, Zhou L, Wu S, Zhang S, Qi L, et al. Role of kisspeptin/GPR54 in the first trimester trophoblast of women with a history of recurrent spontaneous abortion. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(8):8161-73.
144. Colak E, Ozcimen EE, Erinanc OH, Tohma YA, Ceran MU. Is placental KISS-1 expression associated with first trimester abortion spontaneous? *Obstet Gynecol Sci*. 2020;63(4):490-6.
145. Park DW, Lee SK, Hong SR, Han AR, Kwak-Kim J, Yang KM. Expression of Kisspeptin and its receptor GPR54 in the first trimester trophoblast of women with recurrent pregnancy loss. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(2):132-9.
146. Yu H, Liu J, Guo H, Chen C, Han Y, Cui Y. Prognostic value of repeated serum kisspeptin measurements in early first trimester pregnancy: a preliminary study. *Reprod Biomed Online*. 2019;38(3):465-71.
147. Mumtaz A, Khalid A, Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Rehman R. Kisspeptin: A Potential Factor for Unexplained Infertility and Impaired Embryo Implantation. *Int J Fertil Steril*. 2017;11(2):99-104.
148. Jamil Z, Fatima SS, Arif S, Alam F, Rehman R. Kisspeptin and embryo implantation after ICSI. *Reprod Biomed Online*. 2017;34(2):147-53.
149. Cartwright JE, Williams PJ. Altered placental expression of kisspeptin and its receptor in pre-eclampsia. *J Endocrinol*. 2012;214(1):79-85.
150. Hustin J, Jauniaux E, Schaaps JP. Histological study of the materno-embryonic interface in spontaneous abortion. *Placenta*. 1990;11(6):477-86.
151. Jauniaux E, Zaidi J, Jurkovic D, Campbell S, Hustin J. Comparison of colour Doppler features and pathological findings in complicated early pregnancy. *Hum Reprod*. 1994;9(12):2432-7.
152. Roseweir AK, Katz AA, Millar RP. Kisspeptin-10 inhibits cell migration in vitro via a receptor-GSK3 beta-FAK feedback loop in HTR8SVneo cells. *Placenta*. 2012;33(5):408-15.

153. Logie JJ, Denison FC, Riley SC, Ramaesh T, Forbes S, Norman JE, et al. Evaluation of kisspeptin levels in obese pregnancy as a biomarker for pre-eclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012;76(6):887-93.
154. Smets EM, Deurloo KL, Go AT, van Vugt JM, Blankenstein MA, Oudejans CB. Decreased plasma levels of metastin in early pregnancy are associated with small for gestational age neonates. *Prenat Diagn*. 2008;28(4):299-303.
155. Becker JA, Mirjolet JF, Bernard J, Burgeon E, Simons MJ, Vassart G, et al. Activation of GPR54 promotes cell cycle arrest and apoptosis of human tumor cells through a specific transcriptional program not shared by other Gq-coupled receptors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;326(3):677-86.
156. Halperin R, Peller S, Rotschild M, Bukovsky I, Schneider D. Placental apoptosis in normal and abnormal pregnancies. *Gynecol Obstet Invest*. 2000;50(2):84-7.
157. Straszewski-Chavez SL, Abrahams VM, Mor G. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocr Rev*. 2005;26(7):877-97.
158. 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.
159. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, Sinigaglia E, Sinha AA, Natale C, et al. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol*. 2002;21(1):165-70.
160. Torricelli M, Galleri L, Voltolini C, Biliotti G, Florio P, De Bonis M, et al. Changes of placental Kiss-1 mRNA expression and maternal/cord kisspeptin levels at preterm delivery. *Reprod Sci*. 2008;15(8):779-84.
161. Dolitzky M, Inbal A, Segal Y, Weiss A, Brenner B, Carp H. A randomized study of thromboprophylaxis in women with unexplained consecutive recurrent miscarriages. *Fertil Steril*. 2006;86(2):362-6.
162. Maged AM, Abdelhafiz A, Mostafa WA, El-Nassery N, Fouad M, Salah E, et al. The role of prophylactic use of low dose aspirin and calheparin in patients with unexplained recurrent abortion. *Gynecol Endocrinol*. 2016;32(12):970-2.

8. EKLER

8.1. Tez Çalışması Özgünlük Raporu Beyanı

Gönderim Tarihi: 28-Tem-2021 08:17PM (UTC+0300)

Gönderim Numarası: 1625112653

Dosya adı: 28.07.21-new_2.docx (4.57M)

Kelime sayısı: 9731

Karakter sayısı: 70414

tez

ORJİNALLIK RAPORU

% 11	% 10	% 5	% 4
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	%2
2	acikerisim.pau.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
4	toad.halileksi.net İnternet Kaynağı	%1
5	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
6	cocukergen2020.com İnternet Kaynağı	<%1
7	cukurovatip.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
8	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
9	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<%1

8.2. Etik Kurul Belgesi

