

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**HABİTUEL ABORTUSLU HASTALARDA ENDOMETRİYUM LENFOSİT
TOPLULUKLARININ ETKİSİ**

Dr. Nagihan Yılmaz

Kadın Hastalıkları ve Doğum AD
Bilim Uzmanlığı

2010

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**HABİTUEL ABORTUSLU HASTALARDA ENDOMETRİYUM LENFOSİT
TOPLULUKLARININ ETKİSİ**

Dr.Nagihan Yılmaz

Prof.Dr. Aydın Çorakçı
Tez Danışmanı

Prof.Dr. İzzet YÜCESOY
Anabilim Dalı Başkanı

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
İNSAN ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
PROJE NO: KKA EK 2009 / 8

ÖNSÖZ

Gerek tez çalışmam boyunca gerekse uzmanlık eğitim süresince bana daima yardımcı olan, bilgi birikimi ve tecrübeleriyle çalışmalarına ışık tutan, tez danışmanım Sayın Hocam Prof. Dr.Aydın Çorakçı, Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İzzet YÜCESOY'a ve bilgi ve tecrübeleri ile eğitim sürecimde ve sosyal hayatımdan varlığını esirgemeyen Doç. Dr.Eray Çalışkan'a sonsuz şükranlarımı sunarım. Tez çalışmalarımda emeği geçen değerli hocalarım Prof.Dr. Erdal KARAÖZ ve Yrd. Doç.Dr. Gülçin GACAR'a, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve becerisini paylaşan çok değerli hocalarım Prof. Dr.Semih Özeren, Doç. Dr. Gülseren Yücesoy, Doç.Dr. Sebiha Özdemir Özkan, Yrd.Doç.Dr.Emek Doğer'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm asistanlık sürecimizi beraber geçirdiğimiz, iş ve özel hayatta, iyi ve kötü günümde her daim yanımda olan, her daimde yanımda olacak olan kardeşim kadar sevdiğim ve değeri olan Dr. Sertan Aksu ve Dr. Öner Aynioğlu'na ve tüm asistan arkadaşlarıma varlıkları için çok teşekkür ederim.

İş hayatımda bana desteklerini esirgemeyen her daim yanımda olan poliklinik hemişremiz Aysel Akfesli, sekreterimiz Gülden Sağlam personelimiz, Hediye Çapakçur, servis ve doğumhane hemşirelerimiz; Rabia Şekerci, Semra Eskin, Tuba Alemdar, Neslihan Bilgen Çakır, Hülya Pekdemir'e çok teşekkür ediyorum.

Herşeyimi borçlu olduğum annem ve babama çok teşekkür ediyorum.

Dr.Nagihan Yılmaz

Haziran-2010

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	3
İÇİNDEKİLER	4
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	6
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	7
TABLO DİZİNİ	8
1- AMAÇ VE KAPSAM.....	9
2- GENEL BİLGİ.....	11
2.1. GİRİŞ	11
2.2. DÜŞÜKLERDE SINIFLAMA	11
2.3. SIKLIK.....	14
2.4. ETYOLOJİ.....	16
2.4.1. GENETİK NEDENLER	18
2.4.1. A.SAYISAL KROMOZOMAL ANOMALİLER	18
2.4.1. B. YAPISAL KROMOZOM ANOMALİLERİ.....	19
2.4.1. C. MENDELYAN VE POLİGENİK FAKTÖRLER.....	20
2.4.2 BAĞIŞIKLIK NEDENLERİ	21
2.4.2. A. ALLOİMMÜNİTE	21
2.4.2.A.1 DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRELER.....	23
2.4.2.A.1.a PERİFERİK NK HÜCRELERİ.....	23
2.4.2.A.1.b uNK HÜCRELERİ.....	26
2.4.2.A.2 HORMON MEKANİZMASI.....	30
2.4.2.B OTOİMMÜNİTE	32
2.4.3. ANATOMİK NEDENLER.....	34
2.4.4 ENFEKSİYÖZ NEDENLER	37
2.4.5 ÇEVRESEL FAKTÖRLER	38
2.4.6. ENDOKRİN NEDENLER.....	38
2.4.6.a. DIABETES MELLİTUS	38
2.4.6.b. TİROİD BOZUKLUKLARI	38
2.4.6.c. DÜŞÜK PROGESTERON DÜZEYLERİ	39
2.4.6.d. LUTEAL FAZ BOZUKLUKLARI.....	39
2.4.7. TROMBOFİLİK BOZUKLUKLAR	41
2.5. ÖYKÜ	45
2.6. FİZİK MUAYENE	45
2.7. LABARATUVAR	45
2.8. TEDAVİ	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	52
3.1. GEREKLİ MALZEMELER	52
3.1.1 REAKTİFLER	52
3.1.2 DİĞER MALZEMELER	52
3.2 YÖNTEMLER	53
3.3 DENEĞİN GERÇEKLENMESİ.....	54
3.3.1 İNSAN ENDOMETRİYUMUNDAN HÜCRE İZOLASYONU	54
3.3.2. İNSAN ENDOMETRİYUMUNDAN ELDE EDİLEN HÜCRELERİN FLOWSİTOMETRİ AYGITINDA İNCELENMESİ.....	54
3.4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ	56
4.BULGULAR.....	57

5.TARTIŞMA	67
6- SONUÇLA	75
7- ÖZET	76
8- ABSTRACT.....	78
9- KAYNAKLAR	80
10- EKLER	97

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

bHCG:	Human koryonik gonodotropin
OD:	Otozomal dominant
NK:	Doğal öldürücü hücreler
MHC:	Major histokompatibilite kompleks
HLA:	Human leukocyte antigen
THR:	Hücrelerdeki T hücre reseptörleri
NCAM:	Nöral hücre adezyon molekülü
KIR:	Killer inhibitor reseptör
ER:	Estrojen reseptör
PR:	Progesteron reseptör
GR:	Glukokortikoid reseptörleri
TNF:	Tümör Nekroz faktör
PIBF:	Progesteron induced blocking faktör
MIP:	Makrofaj enflamatuvar protein
VEGF:	Vasküler endotel büyüme faktörü
IRF- 1:	IFN-regulatory faktör-1'in (IRF-1)
LIF:	Lösemi inhibe edici faktör
APA:	Antifosfolipidantikor
LAC:	Lupus antikoagulan
aCL:	Antikardiolipin Antikorlar
KMD:	Kemik mineral dansitometrisi
IVIG:	Intravenöz İmmünglobülin
ANA:	Antinükleer Antikor
PCOS:	Polikistik over sendromu
BGL:	Büyük Granüler Lenfosit
PAL:	Plazminojen aktivatör inhibitörü
UPA:	Ürokinaz Plazminojen Aktivatörü
PGT:	Preimplantasyon genetik tanı
UH:	Un fraksiyone heparin
DMAH:	Düşük moleküler ağırlıklı heparin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.4 uNK hücrelerinin hormonal düzenlemelerinin olası mekanizmaları

Şekil: 2.4.3 Konjenital Uterus anomalilerinin önemli tipleri

Şekil 4.1: Habituel abortus ve kontrol grubunda sigara kullanımı

Şekil 4.2: CD 16 oranı yüksek ve normal olan hastamızın grafiği

Şekil 4.3: CD 4 ve CD 8 hücrelerini gösteren grafik

Şekil 4.4: CD 4+3 sayısı yüksek olan hastamızın grafiği

Şekil 4.5: Normal HLA G değerleri olan hastamız

TABLolar DİZİNİ

- Tablo: 2.1.** Tekrarlayan Düşük Nedenleri
- Tablo: 2.2.** Düşüklerde kromozom anormallikleri
- Tablo: 2.3.** NK hücre yüzey antijenleri
- Tablo:4.1** Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması
- Tablo: 4.2** Tekrarlayan düşük grubu ve kontrol grubunun obstetrik özgeçmişi
- Tablo 4.3:** Tekrarlayan düşük grubunda düşük sayılarının dağılımı
- Tablo 4.4:** Abortların gebelik trimesterine göre dağılımı.
- Tablo 4.5:** Tekrarlayan düşüklü hastalarda tromboz paneli
- Tablo 4.6:** Flow sitometrik analiz sonuçları
- Tablo 4.7:** Tekrarlayan düşük ve kontrol grubunda hormon profili.
- Tablo 4.8:** Tekrarlayan düşüklü hastalarda lökosit subtip araştırma sonuçları

1-AMAÇ VE KAPSAM

Spontan gebelik kaybı gebeliğin en sık görülen komplikasyonudur. İnsan gebeliklerinin yaklaşık %70'i canlılık kazanamaz ve tahminen %50'si geciken ilk menstruasyondan önce kaybedilir. Klinik olarak fark edilen gebeliklerin de %15'i 20 haftadan önce kayıpla sonuçlanır (1). Erken gebelik kaybı doktor ve hasta için moral bozucu ve endişeye neden olan bir olaydır. Plazma veya idrarda günlük Humsn koryonik gonodotrpın (hCG) monitorizasyonu ile tüm gebeliklerin %39'unun implantasyon sonrası kaybedildiği gösterilmiştir (2).

Tekrarlayan gebelik kayıpları, kadınların %1-2'sini etkileyen, etyolojisinde birçok faktörün suçlandığı, bununla birlikte %40-50 oranında sebebin bulunamadığı önemli jinekolojik problemlerden biridir. Tekrarlayan gebelik kayıpları, birbirini takip eden 2 ya da daha fazla gebeliğin 20 haftadan önce, fetal ağırlığın 500 grama ulaşmadan kendiliğinden sonlanmasıdır. Ektopik ve molar gebelikler bu gruba alınmazlar (3, 4).Tüm gebeliklerin düşük ile sonlanması birincil, gebeliğin bir kez başarılı olarak sonlanmasından sonra tekrarlayan düşükler olması ise ikincil olarak adlandırılır (5).

Matematiksel olarak üç düşüğün ardarda olma ihtimali %0.34'dür. Beklenene göre tekrarlayan gebelik kaybı insidansının daha fazla olması nedeniyle, bu çiftlerin bir kısmında gebeliklerini kaybetmenin belirli bir nedeni vardır. Tedavi edilebilen olası faktörlerin dikkatli incelemesinin yapılması gereklidir. Hemen tüm klinisyenler üç kez düşük yapmış kişilerde çiftlerin tanısız araştırmasının yapılması konusunda aynı düşüncededirler. Bununla birlikte klinisyenlerin yaklaşık %50'si, aynı nedenin bulunabileceğinden dolayı iki gebelik kaybı halinde de araştırma yapılmasından yanadırlar. Bir başka düşünce de, iki kez gebelik kaybı olan bir çiftin testler yapılmadan 3. bir travma ile karşılaşmamasının sağlanmasıdır. Buna karşılık, bu çiftlerin %80 kadarı stresli ve pahalı bir araştırmaya gitmeden sağlıklı bir gebelik elde edebilmektedirler (6, 7).

Biz iki düşük sonrası anatomik, kan biyokimyası ve hormonal nedenler araştırılıp sonuç bulunamayan açıklamayan habituel abortusu olan hastaları inceledik. Bir allogreft olarak fetusun immüntoleransı ile sağlıklı gebelik elde edilmektedir. İmmüntoleransta çok çeşitli faktörler rol oynamaktadır. Uterin ve

periferik kandaki lenfositler sayı ve özellik olarak yerel olarak etkili olabilecek uterus lenfosit alttiplerinden farklıdır. Nedenini açıklayamadığımız hasta grubunda bu hücrelerin sayı ve birbirine olan oranlarıyla endometriyum mikroçevresinde olabilecek değışikliğin tekrarlayan düşükle olabilecek ilgisini araştırdık.

2- GENEL BİLGİLER

2.1 GİRİŞ

Kendiliğinden düşükler, düşük için ilaç verilmeden gelişen gebelik kayıplarını ifade etmek amacıyla kullanılmaktadır. Fetusun dış ortamda varlığını sürdürebilecek bir olgunluğa ulaşmasından önce gerçekleşen tüm gebelik kayıpları için kullanılan geniş yelpazeli bir terimdir. Genetik nedenlerle embriyonun hiç gelişmediği ve gebeliğin çok erken döneminde rastlanan bir kayıptan; embriyonun tamamen normal olduğu ancak servikal yetmezlik nedeniyle daha geç dönemde rastlanan bir kayba kadar patogenezi bir birlerinden çok farklı ama sonuçları aynı olan durumları anlatmak için kullanılır. Ektopik ve molar gebelikler yüzünden sonlanan gebeliklerin de bu başlığın dışında tutulması gereklidir.

Kendiliğinden düşük, son menstrüel kanamanın ilk günü temel alınarak 20. gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha hafif embriyo veya fetus ve eklerinin tamamının ya da bir kısmının, mekanik ya da farmakolojik bir girişim olmaksızın uterus dışına atılması olayına denilmektedir (8). Kendiliğinden düşük sık gözlenen bir durumdur. Son menstrüasyon tarihinden itibaren, klinik olarak tespit edilen gebeliklerin %15'i düşük ile sonuçlanır. Gebelik kayıplarının çoğunluğu klinik olarak tanımlanamaz (1).

Erken gebelik kayıplarının birçoğunda olay beklenen adetten önce ya da adet sırasında olduğu için annenin fark etmesi mümkün olmaz. Fark edilen gebeliklerin de %15-20 kadarı kendiliğinden düşük ya da ektopik gebelik gibi tanılarla kaybedilir. Gebelik isteyen çiftlerin yaklaşık %5'i iki ardışık gebelik kaybı yaşarken, üç ya da daha fazla kayıp yaşayan ailelerin oranı %1 civarındadır (3).

2.2 DÜŞÜKLERDE SINIFLAMA:

Düşükler oluş zamanlarına göre 3 gruba ayrılır.

1) Belirlenemeyen (subklinik) düşük: Henüz klinik ya da görüntüleme teknikleriyle gebelik tanısı yokken sadece gebelik testinin pozitif olduğu durumlarda oluşan düşükler bu gruba girer. Bu aşamadaki kayıpların birçoğu gamet bozukluğuna bağlıdır (3).

2) Erken düşükler: 12. gebelik haftasının sonuna kadar olan düşükler bu gruba girer. Düşüklerin %80'inden fazlası 12 hafta içinde olur ve oran bundan sonra hızla

düşer. Bu erken düşüklerin en azından yarısına kromozom anomalileri neden olur (8).

3) Geç düşükler : 13-20. haftalar arasında oluşan düşükler..

Gebelik kayıpları, preembriyonik (<5 hafta), embriyonik (5–10 hafta) ve fetal (>10 hafta) kayıp şeklinde de sınıflandırılabilir (9).

Oluş şekillerine göre düşükler iki gruba ayrılır.

1) Kendiliğinden düşükler: 20. gebelik haftasından önce herhangi bir mekanik ya da farmakolojik girişim olmaksızın kendiliğinden oluşan düşüklerdir.

2) İndüklenmiş düşükler: Mekanik ya da farmakolojik girişimler sonucu oluşan düşükleridir.

a) Terapötik düşükler: Maternal sistemik bir hastalık veya fetal anomali gibi tıbbi endikasyonlar nedeniyle gerçekleştirilen düşükler.

b) İstemli düşükler: Anne ve bebek açısından hiçbir tıbbi sorun yokken istenmeyen bir gebeliğin sonlandırılmasıdır. 10. gebelik haftasına kadar istenmeyen gebelikler yasal olarak sonlandırılabilir.

Düşükler sonlanma şekillerine göre iki gruba ayrılır.

1) Tam düşük: Fetüs ve eklerinin tamamının uterin kavite dışına atılmasıdır.

2) Tam olmayan düşük: Fetüs ve eklerinin tamamının atılamadığı, bir kısmının uterus içinde kaldığı düşüklerdir. Uterus içinde kalan yapılar küretajla çıkarılmalıdır. On haftalık gebelikten önce plasenta ve fetüs genellikle birlikte atılır ancak daha sonra bunlar çoğunlukla ayrı olarak atılır (8).

Düşükler klinik şekillerine göre de beş gruba ayrılır.

1-Düşük tehdidi: 20. Gebelik haftasından önce vaginal kanama olmasıdır. Tüm gebeliklerin yaklaşık %30-40'ında görülür. Kanama çoğunlukla az miktardadır ve alt batında hafif ya da kramp tarzında bir ağrıya birlikte olabilir. Bu hastaların ayırıcı tanısında vaginal kanama yapan diğer durumlar dışlanmalıdır. Fizik muayenede karın genellikle hassas değildir ve serviks kapalıdır. Hastaların çoğunda kanama 8-10. gebelik haftasında olsa da gerçek kayıp sıklıkla 8. Gebelik haftasından önce olur. Hastaların sadece %3.2' sinde gebelik kaybı 8. haftadan sonra olur (1). Yedi haftalık gebelikte fetal kardiyak aktiviteyle birlikte fetal kutup görülebilir. Gebelik kesesi izlendikten sonra hastaların %11.5' inde gebelik kaybı oluşur. Eğer yolk sac varsa bu kayıp oranı %8.5, 5 mm'lik embriyo varsa kayıp

oranı %7.2, 6-10 mm arasında embriyo varsa kayıp oranı %3.2, embriyo 10 mm ise kayıp oranı sadece %0.5'dir. 14 haftalık gestasyondan sonra kayıp oranı yaklaşık %2'dir. Görünür bir yolk kesesi olmadan ortalama kese çapının 13 mm veya daha fazla olması veya embriyo olmadan ortalama kese çapının 17 mm'den fazla olması tüm olgularda yaşayabilirliğin olmadığını gösterir (10).

Düşük tehditi olgularında izlem yapılır. Şayet kanama hafif ve ağrı yoksa gebeliğin devam edeceği düşünülmelidir. Kanaması olan gebeliklerin %50'den fazlası devam eder. Kanama 10. gebelik haftasında ise %90, şayet 13. gebelik haftasında ise %99 olasılıkla gebelik devam eder (6).

2) Kaçınılmaz düşük: Düşük tehditi belirtileri olan gebede serviksin iç kısmının açılmasıdır. Kanama fazladır. Amnion zarı yırtılmıştır ve pelvik ağrı vardır (2).

3) Gecikmiş düşük: İntrauterin fetal canlılığın kaybolduğu ancak diğer düşük tiplerinde görülen kanama, servikal açılma gibi bulguların olmadığı durumdur. Ultrasonografide fetal canlılık saptanmaz ve takiplerde betaHCG artmaz. Eğer ölü fetüsün uterus kavitesinde kalışı uzun sürerse ciddi pıhtılaşma bozuklukları ortaya çıkabilir ancak bu, daha çok gebeliğin fetüsün ölümünden sonra 2. trimestere ulaşması durumunda görülür. Tedavi fetüs ve eklerinin uterustan dışarıya boşaltılmasıdır (11).

4) Septik düşük: Genellikle kontamine yabancı cisimle düşük yaptırma girişimini (Kriminal düşük) takiben ortaya çıkar. Daha çok yasa dışı düşüklerle ilişkilendirilmiştir. Endometrit olağan bir sonuçtur ancak parametrit, peritonit, endokardit ve sepsis de oluşabilir. Septik abortuslar sonrası yapılan kan kültürlerinde 1/4 oranında pozitif kan kültürü saptanmıştır. Bunlarında 2/3'ünü anaerobik bakteriler oluşturmuştur. Tedavisi, gebelik ürünlerinin uterus kavitesinin hızla boşaltılması ve iv. geniş spektrumlu antibiyoterapiyi içerir (8).

5) Tekrarlayan düşükler: Geleneksel olarak tekrarlayan düşük; son menstrüasyon tarihinden itibaren 20. gebelik haftasından önce klinik olarak fark edilmiş üç veya daha fazla gebelik kaybı olarak tanımlanır. Bu tanım kullanıldığında tekrarlayan gebelik kayıplarının yaklaşık olarak her üçyüz gebelikte bir olarak gerçekleştiği görülür (12).

Ancak, gebelik kaybından önce fetal kalp aktivitesi saptanmışsa, kadının yaşı 35'ten fazla ise veya çiftin gebelik elde etme zorluğu varsa iki kendiliğinden düşük

sonrasında gebelik kaybının klinik araştırılmasına başlanmalıdır. İki kendiliğinden düşükten sonra klinik araştırmaya başlanırsa yaklaşık olarak gebe kadınların %1'i değerlendirmeye gereksinim duyar (13).

2.3. SIKLIK

İnsan üreme sisteminin çok önemli bir özelliği yüksek kayıp oranlarıyla çalışan bir sistem olmasıdır. Klinik olarak tanınan gebeliklerin %10-12'si kaybedilir (14). Bu rakamın aslında %50'ye yakın olduğu düşünülmektedir, bunun nedeni de döllenme sonrası 2-4 haftalık süre içinde annenin kimyasal gebelik durumunun da yaptığı düşüklere (15). Kimyasal gebelik henüz klinik ya da görüntüleme teknikleriyle gebelik tanısı yokken sadece gebelik testinin pozitif olmasıdır. Erken gebelik kaybının tahmini sıklığı her saatte 114 vaka olarak hesaplanmıştır (12). Türün devamlılığı açısından ilk bakışta başarısızlık gibi görünen bu durum, türün sağlığının korunması açısından değerlendirildiğinde yüksek bir başarıyı yansıtmaktadır. Türlerin pek çoğunda kromozomal olarak anormal sperm veya ovumun varlığı halinde döllenme gerçekleşmez. Yani, gametogenez, anormallik potansiyeli taşıyan bireyleri ayıklama basamağı olarak iş görür. İnsanlarda ise bu ayıklama basamağı gametogenez sürecinde son derecede yetersizdir. Bu nedenle, kromozomal olarak anormal olsalar bile ovum veya sperm yine de döllenebilmektedir. Her yüz ovumun sadece ondörtü döllenmeyi başaramaz (16). Döllenenmeden sonra ise ayıklama süreci çok etkin bir hale gelir. Bu etkinlik insanlardaki spontan gebelik kayıplarının temelini oluşturur. Bu kayıpların çoğunluğu, gebelik henüz klinik olarak tanınmadan gerçekleşir. Öyle ki döllenmeden sonra ortaya çıkan 86 embriyonun 16'sı implante olmadan; 27'si ise klinik olarak tanınmadan önce kaybedilir (16). Gebe kalmaya çalışan ve geç luteal fazda yapılan beta hCH ölçümleri pozitif sonuçlanan fertil kadınların %8-57'sinde beklenen tarihlerde mensin başlamış olması da bunu desteklemektedir (2). Bu bulgular, kimyasal gebeliklerin sanıldığından daha fazla olduğunu ve bunların önemli bir kısmının kaybedildiğini göstermektedir. İnsanlarda, preklitik kayıp oranı bu denli yüksek olduğu halde fertilité bundan etkilenmemektedir. Beta hCG testleriyle bir önceki siklularda preklitik kayıp yaşadıkları saptanan olguların %35'i bu kaybı izleyen ilk aylarda klinik gebelik elde edebilir, %95'i ise daha ileri dönemlerde çocuk sahibi olabilir (12).

Wilcox ve arkadaşları tarafından 1988 yılında yapılan ve bu konuyla ilgili yayınlar arasında bir klasik haline gelmiş çalışmada 221 kadının toplam 707 menstrual siklus boyunca izlemi sonucunda; toplam 198 gebelik elde edilmiş bunlardan 43'ü (%22) mens zamanından önce kaybedilmiş, diğer 20 gebelik ise (%10) klinik olarak saptanan kayıplarla sonlanmıştır. Bu çalışmada tekrarlayan gebelik kaybı % 3-5 olarak bulunmuştur (12).

Her düşük bir sonraki gebeliğin de düşükle sonlanma olasılığını arttırmaktadır. Birçok çalışmanın verileri sonucunda görülmüştür ki bir spontan abortus sonrası başka bir spontan abortus olma riski %15 civarındadır. Ancak eğer iki kendiliğinden düşük olduysa bu risk %25'e çıkmaktadır. Üç abortus sonrasında tekrar bir gebelik kaybı olma riski % 30-45 arasındadır (17).

Düşük yapma şansının ilerleyen maternal ve paternal yaşla birlikte arttığı gösterilmiştir. Ancak, tekrarlayan gebelik kayıpları açısından tekrar riski genç ve ileri yaş bayanlarda farklılık göstermemektedir (18).

Bu bilgiler, tekrarlayan gebelik kayıpları ve tedavisi hakkında klinik çalışma yapmayı güçleştirir çünkü, önerilen herhangi bir tedavi girişiminin etkisini gösterebilmek için çok geniş hasta grubunun incelenmesi gerekir.

2.4. ETYOLOJİ

Tablo: 2.1 Tekrarlayan Düşük Nedenleri

- Genetik dengeli parental translokasyon (%3-5)
 - Mendelyan
 - Multifaktöryal
 - Diğer
 - Robertsonyan
 - Resiprokal
- Anatomik Faktörler (%12-16)
 1. Doğumsal
 - İnkomplet Mülleryen füzyonun veya septum rezorbsiyonunun tam olmaması
 - Dietilstilbestrol'a bağlı
 - Uterin arter anomalileri
 - Servikal Yetmezlik
 2. Edinsel
 - Servikal Yetmezlik
 - Leiomyomlar
 - Yapışıklıklar
 - Adenomyozis
- Bağışıklık Faktörleri (%20-50)
 1. Hücresel Mekanizmalar
 - Baskılayıcı hücre ve faktör eksiklikleri
 - Majör histokompabilite antijen ekspresyonunda değişiklikler
 - Hücresel bağışıklığın düzenlenmesindeki değişiklikler
 - ❖ Üreme antijenlerine (embriyo ve trofoblast)

TH1 bağışıklık yanıtları

 - ❖ TH 2 sitokin veya büyüme faktörü eksikliği
 - ❖ Hormonal – progesteron ve östrojen
 - ❖ Triptofan metabolizması
 2. Hümorale Mekanizmalar
 - Antifosfolipid Antikorlar
 - Antitiroid antikorlar

- Antisperm antikorlar
- Antitrofoblast antikorlar
- Bloke edici antikor eksikliği

➤ Endokrin (%17-20)

- Luteal faz defekti
- Polikistik over sendromu, insülin rezistansı ve hiperandrojenizm dahil
- Diğer androjen bozuklukları
- Tiroid hastalıkları
- Prolaktin bozuklukları
- Artmış LH sentezi

➤ Enfeksiyöz (% 0.5-5)

- Bakteriler
- Virüsler
- Parazitler
- Zoonozlar
- Mantarlar

➤ Trombotik Faktörler

Kalıtsal trombofililer

- ❖ Tek gen defektleri (FV, MTHFR, Faktör eksiklikleri)
- ❖ Antikor aracılı trombozlar (APAS, anti B2G1)

➤ Çevresel

- Toksinler
- Yasal ilaçlar
- Alkol, kafein, sigara

➤ Diğer Faktörler

Uterin reseptivitenin değişimi (integrinler, adezyon molekülleri)

Erken gebelik kayıplarının etyolojisi çok çeşitli, bir o kadar tartışmalıdır. Genelde birden çok etyolojik faktör saptanmaktadır. Habituel abortusun en sık nedenleri tablo 2.1’de verilmiştir.

Abortusun meydana geldiği gebelik haftası, olası nedenle ilgili ipuçları verebilir. Örneğin antifosfolipid sendromu ve servikal yetmezliğe bağlı kayıplar genellikle birinci trimestirden sonra olur. Kromozom anomalisi nedenli hayatla bağdaşmayan fetusların kaybı ise genellikle birinci trimestir başlarında gerçekleşir.

2.4.1. Genetik Nedenler

2.4.1. A. Sayısal Kromozomal Anomaliler

Birçok kendiliğinden düşük nedeni embriyonun anormal karyotipe sahip olmasıdır. İlk trimestir spontan abortuslarının en az %50'sinde ikinci trimestir kayıplarının %5-10'unda ve canlı doğumların %1'inde sitogenetik anormallik mevcuttur (19). Ancak; bu oran tek gen anormallikleri (mendelyan bozukluklar) ya da birden çok lokustan kaynaklanan (poligenik ya da multifaktöryel bozukluklar) anormallikleri karyotip analizi ile tanılarının mümkün olmaması nedeniyle kapsamaz. Sitogenetik anormallikler en sık gebelik haftası küçüldükçe görülür, embriyonik periyot ilerledikçe oran düşer (>30mm CRL) (15).

Tablo: 2.2 Düşüklerde kromozom anormallikleri (20).

Trizomiler (%50)

- ❖ Trizomi 16 tüm trizomilerin 1/3'üdür, hepsi ölümcüldür.
- ❖ Trizomi 21 (Down Sendromu), sıklıkla mayotik ayrılmama nedeniyle meydana gelir; translokasyona bağlı olguların %80' ninde ekstra kromozom anneden, %20'sinde ise babadan gelir.

Monozomi X (%20)

Turner sendromu (45X) tek başına rastlanan en sık karyotiptir.

Triploidi (%15) (3n=69)

Fazla haploid kromozom setinin %80 babadan, %20 ise annedendir.

Tetraploidi (%5) (4n=92)

Translokasyonlar (%5)

Mozaisizm (%2)

Sitogenetik olarak anormal olan embriyolar genellikle mayotik eşleşme hatasına bağlı anöploid ya da döllenme anomalisine bağlı poliploididir. İlk trimesterde olan sitogenetik anormallik kaynaklı düşüklerin yarısı otozomal trizomilerdir (21). Triploidi ise düşüklerin %16'sında görülür, bunun en temel mekanizması ise normal haploid bir ovumun iki sperm tarafından fertilize olmasıdır (dispermi). Trizomiler genelde mayotik eşleşme hatalarına bağlı olarak normal karyotipli ebevyenlerin çocuklarında ve de rastlantısal olarak meydana gelir (21).

Trizomi sıklığı yaşla birlikte artar. Trizomi 16 tüm trizomilerin %30'unu oluşturur ve en sık rastlanandır. Bütün kromozomların trizomileri düşük materyallerinde saptanabilirken bunun tek istisnası 1. Kromozomdur. İlginç bir bulgu Trizomi 1'in sadece in vitro fertilizasyonla elde edilmiş gebeliklerin düşüklerinde bildirilmiş olmasıdır. Bu bulgu trizomi 1'in daha preimplantasyon evresinde ölümcül olduğunu düşündürmektedir (21, 22). Otozomal trizomiler görülse bile nadirdir. Buna karşın monozomi X (Turner Sendromu) sıklıkla görülür ve spontan abortuslarda en sık görülen kromozomal anomalidir. Turner sendromu sitogenetik olarak anormal olan düşüklerin %20 ile 25'ini oluşturur. Down sendromlu (Trizomi 21) fetusların yaklaşık üçte biri ise terme kadar yaşar (23). Diğer genetik anormallikler arasında anormal döllenmeye bağlı olanlar (tetraploidi, triploidi) sayılabilir, ancak bunlar yaşamla bağdaşmazlar. Tetraploidi kromozom anomlisi bulunan düşüklerin yaklaşık %8'inde görülür ve aslında başka bir bozukluğu bulunan diploid zigotla çok erken dönemde bölünme hatasına bağlıdır (23).

2.4.1. B.Yapısal Kromozom Anomalileri

Yapısal değişimler sitogenetik anomalisi bulunan düşüklerin yaklaşık %3'ünde görülür (24). Yapısal kromozom anomalilerin daha sık olarak anneden bebeğe geçtiğine inanılmaktadır. Erkeklerdeki yapısal kromozom anomalilerinin daha düşük sperm sayı ve kalitesine neden olduğuna, bunun da erkek infertilitesine yol açarak daha düşük gebe bırakma ve düşüğe neden olma oranlarını arttırdığına inanılmaktadır. Bunun istisnası ise yardımla üreme teknikleri ile tedavi edilen çiftlerdir; bunlarda seçilmiş bir sperm oosite enjekte edilmekte ve potansiyel olarak genetik anormalliği bulunabilecek bir sperm dışarıdan gelen yardımla döllenebilmektedir. Translokasyon sıklığı düşük sayısı ile paralel artmaktadır.

Kadınların translokasyon taşıyıcılığının erkeklere göre daha sık olması da bunun sonuçlarındandır. Dengeli olmayan yer değiştirmelerin yarısından fazlası anormal robertsanyan translokasyonlara bağlıdır. (İki akrosentrik kromozomun sentromerlerinden füzyonu gibi). Dengeli olmayan translokasyonların yaklaşık yarısı gametogenesis sırasında ortaya çıkar (24). Ailesel translokasyonların ise yaklaşık 2/3'ü anne kökenliken geri kalan 1/3'ü baba kökenlidir. 2 ya da daha fazla spontan düşüğü olan çiftlerin % 2-3'ünde eşlerden birinde dengeli translokasyon saptanabilir (25). Bu oran kendiliğinden düşük, ek olarak ölü doğum ya da anomalili bebek öyküsü olan çiftlerde % 1.7-4.6 gibi yüksek düzeylerde dir. İnversiyonlarda ya da dairesel kromozomlar gibi diğer yapısal bozukluklar çok daha nadirdir. Son grup ise gen anormallikleridir. Genlere ait bazı mutasyonların bir hastada fertilite ya da tekrarlayan düşük tanısına neden olabilecek bozukluklara yol açabileceği açıktır. Tekrarlayan düşükle ilgisi kanıtlanan tek gen bozukluklarının en iyi örneği yüksek geçişli otozomal dominant bir hastalık olan myotonik distrofi dir (26) .

2.4.1. C. Mendelyan ve poligenik faktörler

Tek gen veya poligenik faktörler üreme sürecinde nadiren tespit edilirler. Ancak; tekrarlayan öploid kayıplara neden olabilirler. Skewed X inaktivasyonu özgün parental bir allelde %90 inaktivasyon olarak tanımlanır. Tekrarlayan düşüğü olan olgularda kontrol gruplarına göre daha yüksek oranda bulunmuştur (27). Tekrarlayan düşüğülerle ilişkisi kanıtlanan tek gen bozukluklarının en iyi örneği yüksek geçişli otozomal dominant (OD) bir hastalık olan myotonik distrofi dir. Fetusu etkileyen ve abortusa yol açan diğer OD bozukluklar tanotoforik displazi ve tip 2 osteogenezis imperfekta gibi ölümcül iskelet displazileridir. Bu hastalarda anne-baba fenotipik olarak normaldir çünkü fetustaki bozukluk çok büyük olasılıkla gametogenesis sırasında mutasyonlardan kaynaklanır. Bu ailelerdeki nadiren görülen tekrarların ebeveynlerin over ya da testislerindeki gonadal mosaisizme bağlı olduğu düşünülmektedir. X'e bağlı hastalıklar dişi embriyolarda abortusa yol açmazken erkek embriyolarda ise nadiren tekrarlayan düşük ile sonuçlanabilir (28). Tekrarlayan abortus iki farklı kromozomal anomaliden kaynaklanabilir;

- 1-Anne ya da babadan kaynaklanan bir anomali,
- 2-Genellikle genetik geçişli olmayan sayısal bir anomalinin tekrarlama sı.

Bir düşükteki karyotipik anomalinin bir sonraki gebelikteki benzer anomaliyi ön görüp göremeyeceğini araştıran çalışmalar da yapılmıştır. Warburton ve arkadaşları anne yaşı da göz önüne alınarak yapılan analizde trizomik bir düşük sonrasında ikinci bir trizomik düşük için riskin artmadığını bulmuşlardır (29). Benzer şekilde ikinci düşükteki trizomi olma riskinin önceki abortusta farklı bir karyotipik anomali olması durumunda da artmadığı gösterilmiştir. Bunun tersine eğer anormal karyotipli bir düşük olduysa ikincisinde de nontrizomik anormal benzer karyotipli düşük olma riski yüksek bulunmuştur (29).

Tekrarlayan düşük sonrasında genetik danışma; Warburton ve arkadaşlarının çalışmasında bir düşük sonrasında karyotip analizine yönelmenin maliyet-etkin olmadığı ortaya konmuştur (29). Ancak 1950 yılında Drugan ve arkadaşları tarafından önerildiği şekilde 2 abortus sonrasında materyallerin incelenmesi uygundur (30). Bu çalışmada iki ya da daha fazla düşüğü olan 305 kadın koriyon villus biyopsisi ya da amniyosentez ile değerlendirilmiştir. Sonuçta tekrarlayan düşüğü olan çiftlerde fetal anoploidi riski yüksek bulunmuştur. Hesaplanan risk 40 yaşından büyük kadınlardaki anöploidi riski olan %1.6 ya eşit bulunmuştur. Daha önce yaşayan bir trizomik bebeği olan kadının sonraki trizomik doğum riski %1 oranının da artmaktadır. Trizomilerin tekrarlama riski sadece yaşamla bağdaşan trizomi 13, 16, 18 ve 21 yada ailesel mozaik trizomi gibi hastalıklarla sınırlıdır (30). Bu hastalarda mutlaka karyotip değerlendirmesi yapılmalıdır.

Hastalarda, düşüğe neden olan genetik bir neden bulunduğunda, günümüzde rutin uygulanan herhangi bir genetik tedavi imkanı olmamakla birlikte, hastalara genetik danışma, prenatal tanı yöntemleri, donör inseminasyonu veya evlat edinme önerilebilir.

2.4.2. BAĞIŞIKLIK NEDENLERİ

2.4.2.A. Alloimmünite

Bağışıklık cevabının kontrolü kalıtsal ve edinsel cevap olarak ayrılır. Kalıtsal cevaplar patojenlerin istilasına karşı ilk savunma çizgisini oluştururlar. Bunlar hızlıdır ve antijene özgül değildir. Kalıtsal bağışıklık için yaşamsal olan hücre tipleri ve tipik mekanizmalar kompleman aktivasyonunu, makrofajlar tarafından fagositozu, doğal öldürücü hücreler (NK) tarafından parçalanmayı ve muhtemelen T hücre reseptörü pozitif olan T hücrelerini içerir. Farklı olarak edinsel bağışıklık

yanıtı ise antijen özgüdür ve çoğunlukla T ve B hücre aracılığı ile etkir. Edinsel cevaplar da birincil (antijenle ilk karşılaşmadaki cevap) ve ikincil (aynı antijenle tekrar karşılaştığında hızlı ve güçlü hafıza cevabı) olarak ayrılabilir.

İmmün cevabı kontrol eden major histokompatibilite kompleks (MHC) genleri kromozom 6 üzerinde bulunurlar. Bu genler sınıf 1 antijenleri ve sınıf 2 antijenlerini kodlarlar. Sınıf 1 antijenleri, HLA (Human leukocyte antigen) A, B, C; sınıf 2 antijenleri ise HLA-DR; DP, ve DQ' dur. Klas 1 antijenler, vücuttaki hemen bütün hücrelerde bulunup kişinin bağışıklık kimliğini belirler. Virüsler gibi hücre içi patojenlere karşı ve onkojenik dönüşüme karşı önemli bir savunma oluştururlar. Sınıf I MHC molekülleri hem CD8+ sitotoksik ve baskılayıcı Y hücrelerdeki T hücre reseptörleri (THR) için hem de NK hücreleri üzerindeki çeşitli resöptörler için önemli bağlanma noktalarıdır (31). Sınıf II MHC molekülleri ise dendritik hücreler, makrofaj –monositler, B hücreleri ve dokuya özgü hücrelerden örneğin deride bulunan Langerhans hücreleri gibi kısıtlı sayıdaki antijen sunan hücrelerin yüzeyinde bulunurlar. Proteinler ve bakteriler gibi dış antijenler bağışıklık hücreleri ile sınıf II antigenler yolu ile ilişkiye girer. Sınıf II MHC'ler için temel bağlanma noktası CD4+ T hücreler üzerindeki THR' lerdir.

HLA antijenleri spermatozoa, oosit ve morula ile blastosist evresindeki erken embriyo üzerinde bulunmazlar (32, 33). Trofoblastlar, maternal kanla doğrudan karşılaşan yegane fetal orijinli hücrelerdir. Klasik HLA antijenleri taşımadıkları halde, villöz ve non villöz plasental ve korioamniotik sitotrofoblastların, bir çeşit sınıf 1 antijeni olan HLA-G antijeni taşıdığı bulunmuştur (34).Klasik HLA antijenlerinin yokluğu ile HLA-G antijeninin varlığının, trofoblasta ait diğer antijenlerinin tanınmasını engelleyerek, maternal bağışıklık cevaba engel olduğu düşünülmektedir. Trofoblastlar ise ayrıca TLX antijenleri (trophoblast – lymphocyte cross reactive antijens) denen antijenleri de taşırlar (35).Bu antijenlerin, annenin bağışıklık sisteminin gebelik ürününü bir şekilde tanıyarak, embriyonun annenin ürettiği bloke edici faktörler aracılığı ile korunmasını sağladığı ileri sürülmüştür. Bu hipoteze göre, bu antijenlerin anne tarafından-baba ile benzer antijenlere sahip olunması nedeniyle tanınmaması, bloke edici faktörlerin yokluğuna, bu da düşüğe yol açmaktadır. Bu görüşü destekleyen bir çalışmada, bazı kadınlarda tekrarlayan düşük probleminin, seks partneri değiştiği zaman ortadan

kalktığı bildirilmiştir (36). Ancak; iki eşten ayrı ayrı gebe kalan kadınların incelendiği başka bir seride, tekrar eden gebelik kaybının partnere özgü olmadığı kanıtına varılmıştır (37).

Bloke edici faktörlerin anti fetal hücrel immün cevabı engelleyici etkisini savunan gruplar, bu faktörlerin eksikliğini saptadıkları hastalara çeşitli immünoterapi yöntemleri önermişlerdir. Üç tip antijen, bloke edici antikor veya antipaternal lenfositotoksik antikor oluşumunu uyarmak amacıyla kullanılmıştır. Bu antijenleri paternal veya bir başkasından alınan lökositler, plasentanin sinsityoplasental membranı ile immünoglobülinidir. Bu tedavi yöntemlerinin etkinliği ve güvenliği ispatlanmamıştır. Birçok çalışmanın ele alındığı metaanalizde de, immünoterapinin, başarılı gebelik hızları üzerine herhangi bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (38).

Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarında, bloke edici faktörler ile antipaternal lenfotoksik antikorların rolünü inceleyen bir immünoterapi çalışmasında, immünizasyon öncesi ve sonrası elde edilen bloke edici faktör düzeyleri ile, sonraki gebeliğin prognozu arasında bir korelasyon gösterilmemiştir (39).

2.4.2.A. 1.Doğal Öldürücü Hücreler

Geçen on yılda immünolojik nedenli düşüklerin hücrel elemanları ve metotlarını açıklamak için çalışmalar yapıldı. İmplantasyonda ve erken gebelikte endometriumda bulunan lökosit popülasyonu içerisinde çoğunlukta bulunan NK hücreleri olduğu için en kapsamlı çalışmalar NK hücreleri üzerine olmuştur.

2.4.2.A.1.a.Periferik NK Hücreleri:

NK hücreleri periferik kan lökositlerinin %10-15'ini oluşturur (40). NK hücreleri fenotipik özellikleri ve fonksiyonel özellikleri aynı lenfosit alt grubudur. Prototipik yüzey antijenleri CD56 ve CD16' dır. CD 16 çoğunlukla NK hücrelerinde bazı küçük T lenfositlerinde ve bazı uyarılmış makrofajlarda eksprese olan düşük afiniteli IgG kompleksi (FcRIII) reseptörüdür. CD16 NK tarafından yönetilen antikor bağımlı hücrel sitotoksiteden sorumludur. CD56 nöral hücre adezyon molekülünün, NCAM, izoformudur. CD 56 başta NK hücresi olmak üzere sitotoksik T hücrelerinin küçük bir grubunda bazı nöronal dokulardan türemiş

hücrelerde eksprese olur (41). NK hücreleri CD56 ekspresyon yoğunluğuna göre ikiye ayrılabilir (42). Periferik kan NK hücrelerinin büyük çoğunluğu (yaklaşık %90) CD56mat'tır ve yüksek oranda CD16 eksprese ederler; diğer %10'luk popülasyon CD56parlak'tır ve düşük oranda CD16 eksprese eder veya hiç eksprese etmez (teznk86). CD56mat hücreler daha sitotoksik iken CD56parlak altgrup, NK hücre kaynaklı imünoregulator sitokinlerin ana kaynağıdır (42). CD 2, CD 7, CD 11b, CD 18, CD 38, CD 45 ve IL-2R (Tablo2.2). CD 57, CD 44, CD 25, c-kit, IL-11, CXCR3, CXCR1, CD62L ve başka antijenler değişik NK hücre altgruplarında eksprese olurlar (41, 42).

NK hücreleri uyarıcı ve engelleyici reseptörler tarafından oluşturulan antijen ile mükemmel bir şekilde yönetilirler. Birçok NK hücrelerini uyaran reseptör tanımlanmış; CD16, killer inhibitory reseptör (KIR) 2DS ve NKp46 (43). Reseptörlerin ligandları CD56 için IgG, KIR2DS için human lökosit antijen (HLA)-C, Nkp56 için bilinmeyen bir ligand ile birleştiginde reseptörler Cd3, FcRI ve DAP12 (43, 44) gibi transmembran adaptör proteinler aracılığı ile uyarıcı sinyaller oluşturur. Aktivator reseptörlere ek olarak NK hücreleri sınıf 1 moleküllerle birleştiginde majör histocompatibility complex (MHC)-1 taşıyan hedeflerin tanınmasına dayanan inhibitör sinyaller oluşturan inhibitör reseptörler de eksprese ederler. Bu reseptörler yakın zaman da tanımlanmıştır; 1) KIR: vücudun kendi hücresinde eksprese olan HLA-A, HLA-B, HLA-C 'yi tanır. 2) CD94/NKG2 reseptör klasik olmayan MHC molekülü HLA-E'yi tanır (45).

Hormonal düzenleme: Normal menstruel siklusa ve gebelikteki değişiklikler, foliküler faz ve luteal faz arasında periferik kan NK hücre sayısı bakımından anlamlı fark yoktur (46, 47). Periferik kan NK hücrelerinin aktivitelerinin menstrual siklus sırasında değiştiğini gösteren çalışmaların sonucu belirsizdir. Bazı çalışmalar anlamlı değişiklik yok derken (47) bazı çalışmalar luteal fazda progesteron seviyesinden bağımsız olarak NK hücre aktivitesinde düşüş olduğunu belirtmektedir. (48).

Gebelikte periferik kan NK hücreleri sayısı olarak düşer. Bu düşüş CD16 + alt grubundaki düşüş nedeniyledir. (49, 50) Ek olarak gebe kadındaki periferik kan NK hücreleri düşük litik aktivite gösterirler (51). Ayrıca T hücreleri ve NK hücrelerinde artmış inhibitör reseptör ekspresyonu (çesitli KIR ve CD94/NKG2A)

gebeliğin ilk haftalarında görülür. Gestasyonun üçüncü ayında maksimuma çıkar ve gebeliğin sonuna kadar aşamalı olarak bazal seviyelere döner (52).

Gebelik sırasında periferik NK hücrelerinin sayı, fenotip ve aktivitelerindeki değişiklik NK hücrelerin hormonal olarak düzenlendiğini düşündürür. Bu düzenleme için gerekli hormonlar ise estrogen, progesteron ve prolaktindir.

Potansiyel mekanizmalar: Hormonların periferik NK hücrelerine etkisi doğrudan reseptör üzerinden veya çevre hücreleri etkileyerek dolaylı yoldan olabilir. Estrojen reseptör (ER) farede dalaktaki NK hücrelerinde tesbit edilmiştir. ER çıkartılmış fare yüksek doz estradiol ile tedavi edilirse NK hücre aktivitesi kontrol grubuna göre düşüş gösterir. Bu da ER'nın ve estrojenin NK hücreleri üzerinde baskılayıcı etkiden sorumlu olduğunu gösterir (53). Ancak estrojenin NK hücreleri üzerinde ER eksprese eden T hücrelere etkisine benzer olarak dolaylı uyarıcı etkisi olduğuna dair kanıtlar vardır. Estrojenin NK hücreleri üzerine tam etkisi etkilenen hücrenin tipine, hücrenin eksprese ettiği NK hücrelerinin progesteron reseptör (PR) ekspresyonu çalışılmamış bir konudur. Progesteronun NK hücrelerine muhtemel etkisi klasik steroid reseptör üzerinden değil, daha çok voltaj kapılı ve kalsiyum aktive K⁺ kanalları üzerindendir. Kalsiyum aktive K⁺ kanalları üzerinden etki progesteronun T lenfositleri üzerinden imünosupresif etkisinde gösterilmiştir. Progesteronun T lenfositlerine etkisinin kısmen glukokortikoid reseptörleri (GR) üzerinden olduğu ileri sürülmüştür. Bu mekanizma GR eksprese eden uNK hücreleri için de olasıdır (55).

Hormonal sistemin NK hücreleri üzerine direkt etkisinin yanında komşu hücreleri de etkileyerek NK hücreleri üzerinde etki gösterebilirler. Bu komşu hücreler periferde T lenfositleridir.

T lenfositler (CD4+) sitokin profilleri ve fonksiyonlarına göre T helper 1 (Th1) ve Th2 olarak ikiye ayrılırlar (56, 57, 58). Th1 ağırlıklı olarak interferon (IFN gama), IL-2 ve Tümör Nekroz faktör (TNF) üretir ve hücrel bağışıklıktan sorumludur. Th 2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve IL-13 üretirler ve humoral bağışıklıkta yer alırlar. Th1 sitokinleri Th2 hücre çoğalmasını inhibe ederken, Th 2 sitokinleri Th 1 aktivasyonunu bloke eder (57). In-vitro çalışmalarda progesteronun Th 1 yolunu suprese ederken Th 2 yolunun gelişiminin sağladığı gösterilmiştir (59). Th 2 sitokinlerinin NK hücreleri üzerinde birçok etkisinin olduğuna inanılmaktadır.

Bunlar; NK hücrelerinin vasküler endotele bağlanmasının ve sitotoksitenin inhibisyonu (60), NK hücre proliferasyonunun inhibisyonu (61) ve NK hücresi sitokin üretimin Th 2 fenotip yönüne kaymasıdır (62, 63) . Ayrıca progesterona cevap olarak T hücre progesteron induced blocking faktör (PIBF) üretirler. Bunun farelerde NK hücre aktivitesini inhibe ettiğini ve düşüğü engellediği gösterilmiştir. Özet olarak periferik NK hücrelerinin hormonal regülasyonu hakkında kanıtlar vardır. Bu düzenleme periferik NK hücrelerindeki ER üzerinden direkt olarak, henüz bulunmaması progesteron reseptörü üzerinden veya reseptörden bağımsız olarak doğrudan olarak veya dolaylı yoldan olabilir. Bu dolaylı etki progesteronun periferik T hücre sitokinlerini etkileyerek NK hücrelerine etkilemesi üzerinden olur. Hala NK hücreleri üzerine hormonal regülasyonun tam mekanizması açıklanamamıştır.

Fonksiyon: NK hücrelerinin belirleyici özelliği önceden duyarlaşmadan olmadan ve HLA antijen kısıtlaması olmadan hedef hücreleri yok edebilme yeteneğidir..

Fonksiyonları:

- 1) Antiviral işlev;
- 2) Antineoplastik işlev;
- 3) Hematopoezin düzenlenmesi;
- 4) Kemik iliği transplantasyonu sonrasında graft vs leukemia etkisidir (40).

Periferik NK hücreleri dinlenme sırasında birkaç sitokin salgılamakla çeşitli uyarılarla GM-CSF, makrofaj CSF (M-CSF), IL-3, IFN gama, TNF-a, TNF-b eksprese edebilirler. Aktive NK hücrelerinden salgılanan TNF-a apoptosiste rol alırken IFN- γ immün cevabın düzenlenmesinde rol alır (40). NK hücre fonksiyonu temel olarak IL-2 ve IFN gama tarafından yönetilir. IL-2 NK hücre proliferasyonuna ve artmış sitotoksik aktiviteye neden olur. IFN gama NK'nın sitolitik aktivitesini artırırken NK hücre proliferasyonuna neden olmaz. Her iki sitokin NK hücre sitotoksitesini artırıcı yönde sinerjistik etki gösterirler (40).

2.4.2.A.1.b uNK Hücreleri

İnsan uterus endometriyumu çok sayıda lökosit içerir. Oranları ve fenotipleri menstrüel siklus boyunca değişiklik gösterir. Lökositler proliferatif fazda stromal hücrelerin %10'nunu, sekretuar fazda %20' sini, erken gebelikte ise desiduaadaki

stromal hücrelerin %30'unu oluşturur (64). Endometriyumdaki lökosit popülasyonun büyük kısmını NK hücreleri olarak adlandırılan büyük granüllü lenfositler oluşturur. Bu hücreler ilk trimester desiduasında endometrial lökositlerin %70'ni oluşturur (64).

Fenotip: uNK fenotipik özellikler bakımından periferik NK hücrelerinin yoğun CD56 içeren topluluğuna benzer. Ancak; fenotipik ve fonksiyonel farklılıklar bulunur. CD56, öldürücü uyarıcı ve engelleyici reseptörleri eksprese ederken, CD16 ve CD57 gibi tipik NK hücre markerlarını eksprese etmez (65). Erken T hücre belirleyicilerden CD2 ve CD7, integrinlerden CD 11a ve CD18 ve IL-2Rb eksprese eder (66, 67). Periferik NK hücrelerine zıt olarak uNK hücreleri erken aktivasyon markerı olarak CD69 eksprese eder (66, 67).

Tablo 2.3. NK hücre yüzey antijenleri

Antijen	Peripheral NKa CD56(mat)	uNKa CD56(parlak)
CD2 (erken T hücre marker)	+	+
CD7 (erken T hücre marker)	+	+
CD18 (integrin)	+	+
CD16 (NK marker)	+	-
CD45 (hematopoietic hücre)	+	+
CD56 (NK marker)	+	+
CD57 (NK marker)	+	-
CD69 (aktavasyon marker)	-	+
KIR (NK marker)	+	+
c-kit (sitokine receptor)	-	+
IL-2 R (sitokine receptor)	+	+

uNK hücresindeki CD56 ekspresyonun yüksek olması periferik kandaki küçük CD56parlak topluluğundan türediğini düşündürür. Bu iki grup arasında bazı fenotipik farklılıklar mevcuttur. uNK hücreleri KIR +, CD69 +, CD 62 - iken CD56parlak periferik NK hücreleri KIR-, CD69 -, CD62L + dır. Desidudaki CD56parlak uNK poplasyonu ile CD 56 parlak ve CD 56 mat periferik NK hücre popülasyonu arasındaki microassay gen ekspresyonunu araştıran çalışmada CD9,

galectin-1, glycodelin'in desidual NK popülasyonunda eksprese olurken periferik NK hücrelerinde eksprese olmadığı gösterilmiştir (68). Ayrıca uNK hücreleri CD56 parlak 'dan farklı olarak anlamlı dercede yüksek oranda tetraspanin, integrin, lectin benzeri reseptör ve KIR genileri eksprese eder (68). Bu önemli çalışma CD56 parlak uNK ve CD56 parlak periferik kan NK popülasyonu arasındaki fonksiyonel farklılığı anlamamıza olanak sağlamıştır.

Hormonal düzenleme: Menstruel siklus sırasında ve gebelikteki değişiklikleri kapsar. Gebelikte ve normal menstruel siklus sırasında uNK hücrelerinde birçok değişiklik oluşur. İlk olarak sekretuar fazda uNK hücre sayısında belirgin artış olur, erken gebelikte en yüksek sayıya ulaşır ve uterus lökosit popülasyonunun %75'ini oluşturur (64). Aynı zamanda lökositlerin endometriyum stromal hücrelerine oranı proliferatif faza göre erken gebelik desidualsında 3 kat daha fazladır. Erken gebelikte ve menstruel siklus sırasında uNK hücre fenotipi de değişir (69). Aktivasyon antijenlerinden CD 69 ve HLA-DR ve lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1 moleküllerinden CD 11a ve CD18 proliferatif fazda en yüksek seviyedeysen menstruel siklus boyunca aşamalı olarak düşer (69). Benzer olarak; gebelikte uNK hücrelerinde CD69, HLA-DR, lökosit fonksiyon ilişkili antijen-1 ve CD 45RA ekspresyonu düşer (69). Ek olarak tüm uNK hücreleri erken gebelikte bir veya birkaç inhibitör reseptör ekspresyonu yaparlar (52).

Potansiyel mekanizmalar: uNK hücresi üzerinde hormonların etkisini araştıran çalışmalar uNK hücrelerinde PR ve ERa tesbit edememiştir (70, 71). 1996 yılında uNK hücre üzerinde ERb bulunmuştur. (55). Bu hücrelerin ERbcx /b2, ERb1 ve GR için mRNA bulundururken ERa ve PR için bulundurmazlar. Bu buluşa rağmen ER'nin uNK üzerindeki rolü net değildir. uNK hücresinin ER ekspresyonu homing ve farklılaşma için gerekli değildir. ERa- çıkartılmış (aERKO) ve bERKO çıkartılmış farelerin kemik iliği hiçbir lenfosit soyu içermeyen fareye nakledilirse uNK tekrar oluşturulur (72). İşlevi tam olarak anlaşılmazsa da tekrar oluşturulan uNK hücresi uterustaki spiral arteriollerin şekillendirilmesinde rol oynar (72).

Seks steroidlerinin uNK üzerine direkt etkilerinden biri bağışıklık düzenleyici proteinlerin gen ekspresyonunun düzenlenmesidir. Glycodelin insan desidualsı NK popülasyonunda seçici genlerden biriyken periferik CD 56 + NK hücresinde

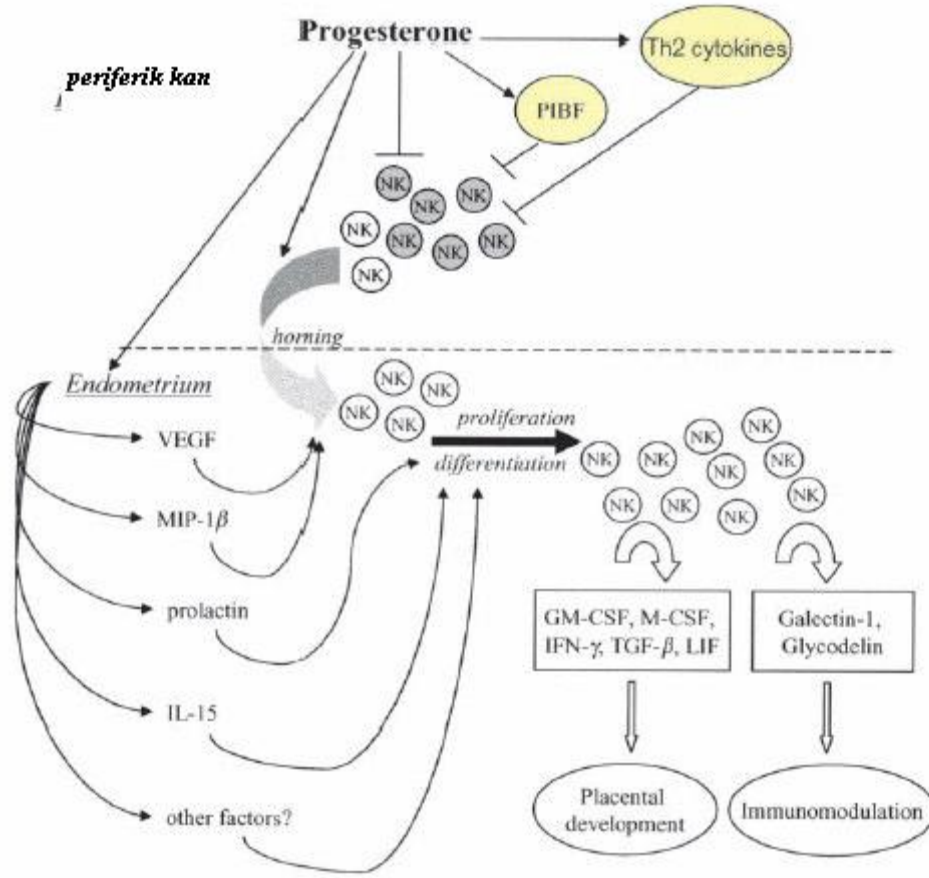
bulunmaz (68). Glycodelin sekretuar endometrial bezlerinde salgılanır ve midsiklus LH dalgasının 3. gününde (d16) ortaya çıkar. Ekspresyonunun progesteron ile arttığı düşünülür. Luteal fazda ve erken gebelikte progesteron etkisi ile uNK hücrelerinin glycodelin üretiminin progesteron etkisi ile artması maternal fetal yüzde başka bir bağışıklık baskılama basamağı sağlar. NK hücreleri tarafından üretilen diğer immünomodulator maddelerin üretimi hormonal olarak düzenleniyor olabilir. Bağışıklık baskılayıcılardan galectin-1'in ekspresyonunun desidual NK hücreleri tarafından artırıldığı, fare uterusunda estrogen ve progesteron tarafından düzenlendiği bulunmuştur (68, 73).

uNK hücreleri üzerinde doğrudan hormonal düzenlemeye ek olarak T lenfositler ve endometriyum stromal hücreleri üzerinden dolaylı etkileri de olabilir. T lenfositler endometriyumun sitokin çevresini düzenlerler. Th 2 sitokinlerinin implantasyon sırasındaki endometriyumda bulunduğu gösterilmiştir (74).Th 2'nin uterus sitokin ağında anahtar rolü olduğu düşünülür. Progesteron uterus Th 2 çevresini değiştirerek dolaylı olarak uNK fonksiyonunu etkiler.

Endometriyumun stromal hücreleri: Menstruel siklusa ve gebelikte uNK hücre sayısının değişimi iki şekilde açıklanabilir;

- 1) periferik NK hücrelerinin uterusda toplanması
- 2) varolan uNK hücrelerinin çoğalması

Her iki mekanizmada da endometriyumun stromal hücreleri rol oynar. İnsan çalışmaları periferik NK hücrelerinin uterusda toplanmasında makrofaj enflamatuvar protein-1b (MIP-1b) ve vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) potansiyel rol oynar. MIP-1b periferik NK hücreleri için kemoatraktandır. Progesteron MIP-1b üretimini artırır (75). MIP-1b ekspresyonu sekretuar fazda artar ve seviyesi ile uNK hücre sayısı arasında ciddi korelasyon vardır. Progesteron ile MIP-1b sekresyonu kültür ortamındaki endometriyum stromal hücrelerinde in-vitro artış göstermiştir. Ayrıca; progesteron ile desidualizasyonun in-vitro modellerinde, VEGF ve VEGF reseptör ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir (76, 77). Bu mekanizma ile anjiogenezi ve doku geçirgenliğini artırarak NK hücrelerinin toplanmasını kolaylaştırır. Fare modellerinde estrogen ve progesteron L-selectin ve $\alpha 4$ integrin bağımlı yolları vasküler endotelde ve lenfositlerde arttırarak CD56 parlak NK'ların uterusda toplanmasını kolaylaştırır (78).



Şekil 2.4 uNK hücrelerinin hormonal düzenlemelerinin olası mekanizmaları

2.4.2. A.2. Hormon mekanizması

Progesteron etkisi altında endometrial stromal hücreler IL-15 ve prolaktin üretimi ile uNK hücrelerinin çoğalmasını ve olgunlaşmasını artırır. Prolaktin midsekretuar faz ile menstruasyon arasında endometriyum stromal hücreleri tarafından üretilir. Gebelikte prolaktin sentezi artarak 20-25. gebelik haftalarında tepe yapar (79). Prolaktin reseptörü ekspresyonu stromal ve glandüler hücrelerde, bulunur ve prolaktin ekspresyonunu takip eder (80). Bundan dolayı prolaktin sistemi implantasyon ve gebeliğin devamında önemli rol oynar. Prolaktin ekspresyonunun tipi uNK hücrelerinin yükselme tipi ile çakışır. Bu da prolaktinin rolünü düşündürür. Prolaktinin uNK olgunlaşmasını ve farklılaşmasını düzenlediği düşünülse de tam işlevi belirsizdir (81). Bu etkiler doğrudan veya dolaylı yollardan olabilir. Prolaktinin bez epitel hücrelerinde ERK lere fosforilasyonu artırdığı ve uNK hücrelerinde dahil olmak üzere endometriyum hücrelerini artırdığı izlenmiştir (81). Prolaktin reseptörü uNK üzerinde insitu imüno Floresans yöntemi,

gerçek zaman PCR ve Western blot analizleriyle tesbit edilmiştir. Ek olarak prolaktin IFN-regulatory faktör-1'in (IRF-1) bez epiteli hücrelerinden üretimini uyarır. IRF-1 periferik NK hücrelerin olgunlaşmasında önemli bulunmuştur (82). Alternatif olarak IRF-1 henüz belirlenmemiş sitokin sentezini uyarır. uNK büyüme ve gelişimini etkiler. Prolaktinin endometriyumdaki parakrin etkilerdeki merkezi rolünü açıklamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Prolaktin ailesinin başka bir üyesi olan prolaktin benzeri protein A, trofoblastlarda sentezlenir ve farelerde in vitro Nk hücrelerin sitolitik aktivitesini azaltır.

Özet olarak uNK hücrelerin hormonal düzenleyici hakkında önemli kanıtlar mevcuttur. Bu düzenleme NK hücrelerinde tesbit edilmiş ER üzerinden direkt olabileceği gibi progesteronun henüz belirlenmemiş reseptörler yoluyla veya reseptörden bağımsız mekanizmalarla doğrudan etkisiyle olabilir. Progesteronun etkisi endometriyum T hücreleri ve stroma hücreleri üzerinden dolaylı yolla da olabilir. VEGF ve MIP-1 periferik NK hücrelerinin toplanmasını sağlar. Prolaktin, IL-15 ve daha henüz tanımlanmamış araçlar uNK hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını arttırmalar. Bu hipotezlere rağmen gerçek mekanizma tam açıklanmamıştır.

İşlev: uNK ve periferik NK hücreleri arasında işlev bakımından önemli farklar mevcuttur. Periferik NK hücrelerine zıt olarak uNK hücreleri NK duyarlı standart hedef K562'ye karşı zayıf sitolitik aktivite gösterirler (83, 84). Ancak; IL-2 uyarılmasından sonra normalde lizise dirençli trofoblastları etkili bir şekilde öldürmek için aktive olurlar (85). uNK hücrelerinin sitokin salgısında periferik NK hücrelerinden farklıdır. Desidual CD56 hücrelerinde G-CSF, GM-CSF, M-CSF, TNF-a, IFN gama, TGF-b ve lösemi inhibe edici faktör (LIF) için mRNA bulunurken periferik NK hücrelerinde yalnızca TNF-a ve TGF-b1 için mRNA bulunur (86, 87).

uNK hücrelerinin tam fonksiyonu açık bir şekilde belirlenememiştir. Gebe olmayan endometriyumda sayıları midsekretuar fazdan başlayarak artar. Kan damarları ve bezlerin etrafında stroma hücrelerinin yakınında bulunurlar. Bu nedenle desidualizasyonun başlamasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür (88). Gebelik olmazsa uNK hücreleri apoptoza benzeyen çekirdek değişiklikleri gösterirler (89). Bu nedenle bu hücrelerin ölümünün menstruasyondaki

endometriyum dökülmenin erken safhasında rol aldığı ileri sürülmüştür (88, 89). Gebelikte implantasyon alanının yakınlarında bulunur ve infiltre olan ekstrasvillöz trofoblastla yakın temasta bulunurlar. Erken gebelikte sayılarının artması, hormonlarla düzenlendiği infiltre olan trofoblastlara yakın komşuluğu ise fetal allografta anne bağışıklık cevabının düzenlenmesinde ve trofoblast büyüme invazyonunda önemli rol oynadıklarını düşündürür. Ek olarak genetik olarak değiştirilmiş fare çalışmaları in-vitro uNK hücrelerinin plasental gelişimin düzenlenmesinde önemli rol oynadıklarını göstermiştir. uNK hücreleri faredeki plasentanın normal vaskülarizasyonu için önemlidir. Sıçanın gebeliği için gerekli değildir. Bu türlerde uNK hücre yokluğunun yerini tutan başka bir mekanizma olabilir. Fare modelleri erken gebelikte uNK hücreleri ve sitokin ağı hakkında önemli bilgi verir.

2.4.2. B. Otoimmünite

Otoimmün hastalıkların tekrarlayan düşüğe eşlik ettiği bilinen bir konudur. Sistemik Lupus Eritematozis tanılı kadınların düşük insidansının fazla olması uzun yıllardır bilinen bir konudur. Antifosfolipid antikorlarının (APA) etyopatogenezdaki yeri 1954' ten beri bilinmektedir (90). APA'lar SLE'li kadınların artmış düşük oranına sahip olmasını sağlayan özgün antikorlardır. Genel toplumla karşılaştırıldığında SLE'li kadınların kendiliğinden düşük sıklığı %10 olarak bululunmaktadır (91). Ancak bu oran geç gebelik kayıpları içinde değerlendirildiğinde % 8 gibi yüksek bir oran bulunmuştur (91). Bu orana dayanarak SLE'ye bağımlı gebelik kayıplarının %75'ten fazlasının ikinci ve üçüncü trimester kayıpları olduğu ortaya çıkmaktadır. SLE'li kadınların bebek kayıplarının nedenlerinin büyük kısmı APA 'lar ile ilgilidir (92). Gebelik öncesi hastalık bulunması, gebelik sırasında SLE tanısı alması eşlik eden böbrek hastalığının varlığı gebelik kayıplarının önceden belirlenmesinde yardımcıdır. (91) APA'lar negatif yüklü fosfolipidlere bağlanan antikorlardır. Lupus antikoagulan (LAC), Antikardiolipin Antikorlar (aCL) ve sifilis için yanlış pozitif sonuç veren antikorlardır (92, 93).

SLE'li kadınların %7 ila 30'u APA pozitifdir (92). Görünüşel olarak sağlıklı kadınların %2'den azında pozitif, görünüşel olarak sağlıklı tekrarlayan düşüğü

olan kadınların %20'den azı pozitifdir. APA'lar bugüne kadar gebelik kayıpları için kesin etyolojik faktör olarak gösterilememiştir. Çünkü; LAC ve aCL'lar yüzünden gebelik kayıplarını araştıran çalışmaların çoğu vaka serileridir. Tekrarlayan düşüklerin aksine izole düşükler APLA ile ilgili bulunmamıştır (94).

APA'ya bağlı trombozun; tromboksan / prostasiklin oranındaki artışa bağlı olduğuna ve böylece trombüs oluştuğuna inanılmaktadır. Plasenta tarafından üretilen tromboksan uteroplental yüzde tromboza yol açar; bu da APA'lı kadınların gebeliklerinde düşük doz aspirin kullanımının başarısını destekler (95, 96). Antifosfolipid sendromuna bağlı kayıplar genelde 10. gebelik haftasından sonra olurlar ve bu diğer spontan abortuslardan farklı bir zaman dilimidir. Neden olan olay olarak da plasental yetmezlik düşünülmektedir (96). .

APA'lar ile ilgili olduğu bilinen diğer hastalıklar arteriyel ve venöz trombozlar, otoimmün trombositopeni, otoimmün hemolitik anemi, livedoretikularis, korea, pulmoner hipertansiyon ve kronik bacak ülserleridir. Antifosfolipid sendromu tanısını kesinleştirmek için klinik bulguların yanı sıra, APLA'ların belli düzeyin üzerinde olması gerekir (92).

Tedavi metodları iki yaklaşıma dayanır. Bunlardan biri, hastadaki antikor miktarını azaltmaya, diğeri de antikorlardan prokoagulan etkilerini gidermeye yöneliktir. Bu metodlar subkutanöz heparin, düşük doz aspirin, prednizon, immünglobülinler, düşük molekül ağırlıklı heparin, yada tüm bunların kombinasyonlarından oluşmaktadır (93, 97). İyi düzenlenmiş kontrollü bir çalışma en az iki kaybı olan kadınlarda subkutan heparin (5000 Ux2/gün) ve düşük doz aspirin (81 mg/gün) fetal sağ kalım oranlarını %50' lerden 80' lere çıkardığını göstermiştir (95, 96, 98).

Tedavi gebelik tanısının konmasıyla başlamalı ve doğuma kadar sürmelidir. Bu tedavi metodunun prednizon + aspirin tedavisine göre daha az toksik olduğu gösterilmiştir. Chowchock ve arkadaşlarının çalışmasında prednizon ve aspirin kombinasyonu ile tedavi edilen hastalarda, daha fazla hipertansiyon, kilo alımı, diyabet ve prematür membran rüptürü görüldüğü bildirilmiştir (97). Heparinin uzun süreli kullanımı mevcutsa hastaya kemik yoğunluk kaybı, kanama problemleri ve trombositopeni hakkında bilgi verilmelidir. %10'a varan oranda kemik mineral

dansitometrisi (KMD) kaybı tüm gebelik boyunca heparin kullanan bir kadında görülebilir, bu kayıp ancak iki yılda yerine konabilir (99).

Branch ve arkadaşları 1992 yılında yaptıkları ve APS'li 54 kadındaki 82 ardışık gebeliği izledikleri çalışmada hastalara şu tedaviler verilmiştir, 1.gruba prednizon ve düşük doz aspirin, 2. gruba heparin ve düşük doz aspirin, 3.Gruba prednizon, heparin ve düşük doz heparin, diğer gruba kombinasyonlar ya da immünglobulin verilmiştir. Dört tedavi grubu arasında fayda açısından bir fark saptanmamıştır (93).

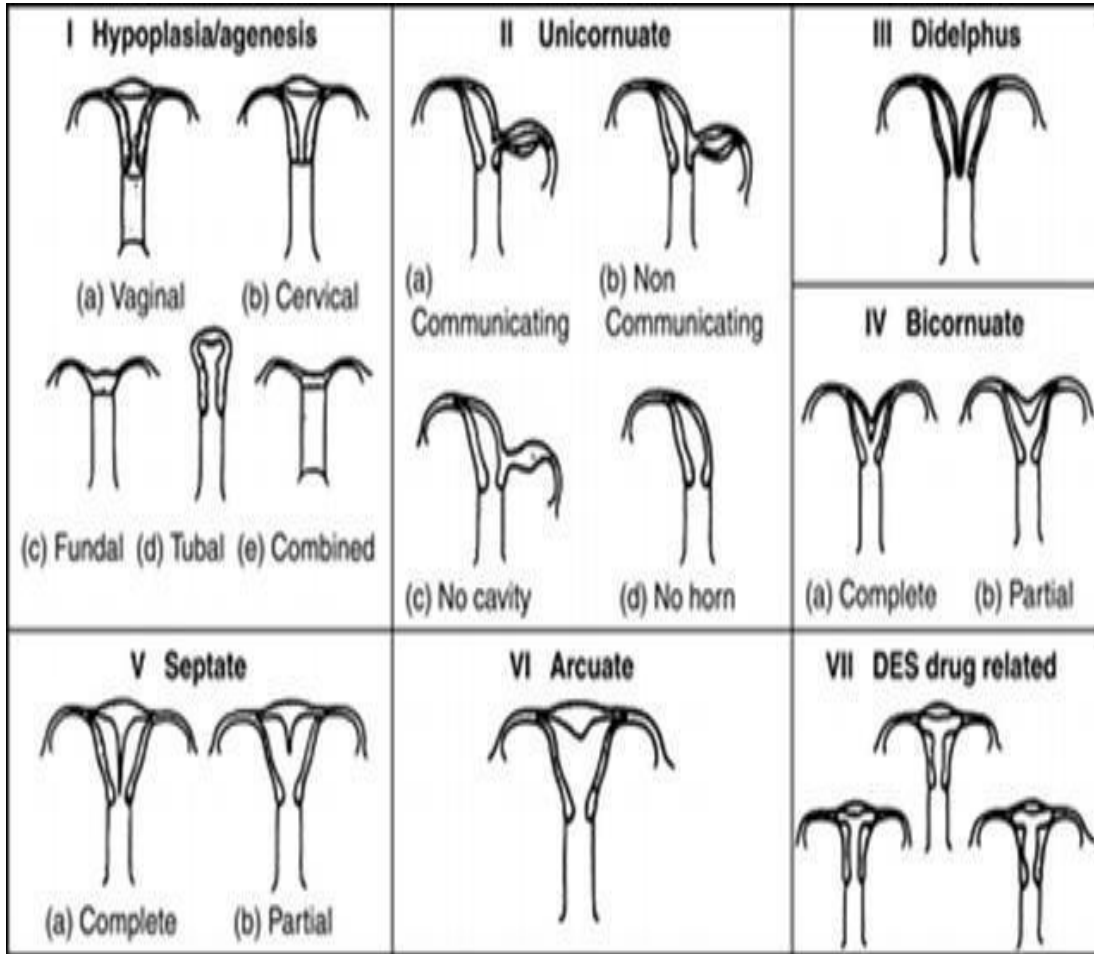
Intravenöz immünglobulin tedavisi sadece fetal kayıpları azaltmakla kalmayıp preeklampsi ve fetal gelişme geriliği görülme hızını da düşüren bir yöntemdir. IVIG tedavisi çok pahalıdır. Bu konudaki bilgiler yeterli düzeye ulaşana kadar ilk seçenek olarak kullanılmamalıdır (100, 101). Antinükleer Antikorlar (ANA) otoimmün hastalık belirtisi ve kliniği olmayan hastalarda bile tekrarlayan düşük ile ilgilidir (102). Artmış ANA titreleri (>1/40) gebe ve gebe olmayan kontrol hastalarında % 0-8 arasında saptanırken tekrarlayan düşüğü olan kadınlarda %7-53 arasındadır (100, 101). Ancak diğer çalışmalarda tekrarlayan düşüğü olan hastalarda minimal yüksek bulunmuş ve gebelik kaybı olmayan diğer toplulukta arasında belirgin fark saptanmamıştır. Etiyolojide ANA'nın olduğunu göstermek için kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

Antitiroid antikorlar habituel abortus için bağımsız bir etkidir (103). Sagnaro-Gereen grubu 500 ardışık gebeyi ilk trimesterde tiroid spesifik antikorlar açısından taramıştır (antitiroglobulin ve/veya antitiroid peroxidaz). Tiroid antikoru pozitif bulunan hastalarda %17 oranında gebelik kaybı öyküsü saptanırken bu oran antikoru olmayan hastalarda % 8.4 olarak bulunmuştur. Tiroid antikoru olan hastaların hiçbirisi belirgin tiroid hastalığı olan hastalar değildi ve gebelik kayıplarının tiroid hormon düzeyleri ya da APA ile ilgisi bulunmamaktaydı. Bu anormallikte esas sorun tiroidle ilgili bir patoloji değil genel bir otoimmün sorun gibi gözükmemektedir (103).

2.4.3.ANATOMİK NEDENLER

Müller kanalı füzyonu ya da kanalizasyon defektlerine, yaklaşık olarak her 700 kadında bir rastlanmaktadır (104). Bu yapısal bozuklukların obstetrik komplikasyonlara yol açtığı bilinen bir gerçektir. Bu komplikasyonlar tekrarlayan

düşük, preterm eylem ve malprezentasyon olarak sıralanabilir (105). Tekrarlayan düşük olan her hastanın uterus malformasyonu için inceleme yapılmalıdır. Her uterus anomalisi olan kadında obstetrik komplikasyon görünmesinin zorunlu olmadığı da bilinmektedir. Uterus anomalili kadınların bazıları komplikasyon yaşarken, diğerlerinin neden etkilenmediği bilinmemektedir. Anatomik nedenler tanı için kullanılan araca bağlı olarak değişmekle birlikte 1/200 ile 1/600 arasında bildirilmektedir (106, 107, 108).



Şekil: 2.4.3 Konjenital Uterus anomalilerinin önemli tipleri

Doğum sonrasında elle yapılan uterus kavitesi muayenesi ile anomali oranı % 3 olarak bulunmuştur. Ancak; gebelik kayıpları olan hastalarda uterin anomali oranı %27 olarak bulunmuştur. En sık rastlanan uterin anomaliler septat, bikornuat ve

didelfis uteruslardır. Unikornuat uterus en nadir rastlanan anomalidir. (107, 108, 109).

Reproduktif kayıba en fazla neden olan anomali bikornuat uterusken (%47), en düşük bulunan ise unikornuat uterustur (%17). Unikornuat ve didelfis anomlilerine kadınlarda en sık preterm doğumlara yol açmaktadır, uterusu septumu bulunan kadınlardaki reproduktif kayıp ise %26 oranındadır. Unikornuat uterus müller kanallarından birisinin gelişimindeki soruna bağlı gerçekleşir. Uterus genellikle o tarafa doğru bükülür ve muayenesi muz izlenimini verir. Unikornuat uterus gebelik sonuçları en kötü olan uterus anomalisidir. Unikornuat anomalili kadınların başarılı gebelik oranlarının literatür ortalaması %40 civarındadır. Bu gebeliklerin %45'i ilk trimestr içinde kaybedilir. Fetal kayıpların yanı sıra %20 oranında da prematürite görülür ki bunun servikal yetmezlik ve uterusun özel durumu nedeniyle gebeliğin normal büyümesine izin vermemesine bağlı olduğu düşünülmektedir (106, 108, 109).

Anomali tanısında tercih edilen görüntüleme yöntemi histerosalpingografi ve yüksek çözünürlüklü 3D, 4D ultrasonografidir. Muz şekilli ve tek fallop tüplü bir uterus kavitesi en sık bulgusudur. Unikornuat anomalilerin %65'inde bir rudimenter boynuz görülür (110). Rudimenter boynuzu olan hastaların gebeliklerinin term ya da terme yakın doğumla sonlanma oranı daha yüksektir. Fedele rudimenter boynuzda gebelik oranını %12.5 olarak bildirmiş ve bunu sperm migrasyonuna bağlamıştır (110). Rudimenter boynuzun eksizyonu intraperitoneal kanamaya bağlı yüksek morbidite oranını düşürmek amacıyla önerilebilir. Eğer rudimenter horn solid yapıda ise gebeliğin kötü etkisi olamayacağı için çıkarılması önerilemez. Unikornuat uterusu olan gebelerde profilaktik servikal serklaj önerilir. Bazı yazarlar bu hastalarda dijital muayene ve ultrason ile servikal uzunluğun düzenli değerlendirilmesi ile beklentisel tedaviyi savunurlar.

Gerçekten üreme performans bozukluğunun nedeni olarak düşünülmeleri halinde anatomik defektlerin cerrahi tedavisi olan septal insizyon veya birleştirme işlemleri endikedir. Tedavi kararı önceki obstetrik öyküye, hastanın yaşına ve de tanıdan sonraki gebeliğin bekleme süresine bağlıdır (111). Ayrıca açık abdominal cerrahinin, pelvik ve intrauterin adezyon yapma riski ve bu nedenle %30'u bulan

sıklıkta infertiliteye neden olabileceği de hesaba katılmalıdır (112). Histeroskopik uterus septumu eksizyonu ise abdominal yaklaşımın risklerini taşımamaktadır.

Tekrarlayan gebelik kayıplarında, adı geçen diğer anatomik defektler, intaruterin sineşiler, uterus leiomyomu ve endometriyum poliplerdir. Intrauterin sineşilere, tekrarlayan düşükle başvuran hastaların %5'inde rastlanmaktadır.

2.4.4.ENFEKSİYÖZ NEDENLER

Enfeksiyöz ajanların gebelik kayıplarına yol açabileceği 1917 yılından bu yana yer almaktadır. Her ne kadar enfeksiyonlar gebelik kaybına neden olarak bildirilse de çalışma sayısı azdır. Tekrarlayan gebelik kaybına neden olmakla birçok organizma suçlanmakla beraber üzerinde konsensus sağlamış bir ajan yoktur. Tekrarlayan gebelik kayıpları içinde enfeksiyonların yeri çok sınırlıdır. Spontan abortuslar için suçlanan mikroorganizmalar şöyle sıralanabilir.

•Bakteriler

- Listerya Monositogenez
- Klamidya Trokomatis
- Üreoplazma Üreolitikum
- Mikoplazma Hominis
- Bakterial Vajinozis

•Virüsler

- Sitomegalovirüs
- Rubella
- Herpes Simplex Virüs
- Human İmmün Yetmezlik Virüsü
- Parvovirüs

•Parazitler

- Toksoplazma Gondi
- Plazmadyum Falsiparum

•Spiroketler

- Trepenoma Pallidum

Enfeksiyöz ajanlar, toksik metabolik ürünleri, endotoksin, ekzotoksin, ya da sitokinler uterus yada fetoplasental yapı üstünde etkili olabilir. Fetüsün enfeksiyonu, organ hasarı ya da fetal ölüme yol açarak gebeliği sonlandırabilir. Plasentanın enfeksiyonu plasental yetmezlik ve fetal ölüme yol açabilir. Enfeksiyon ajanının asendan bulaşı sonucu endometriumun kronik enfeksiyonu (M.Hominis, Klamidya, Ü.Üreolitikum, HSV) implantasyonu bozabilir. İlk trimestirde oluşan amnionitis üçüncü trimestrdeki koryoamnionitis ile aynı şekilde erken doğum eylemine yol açabilir.

2.4.5. ÇEVRESEL FAKTÖRLER

Bu tür etkenler insanlardaki malformasyonların %10'undan sorumludur (113). Tüm insan malformasyonların ancak %1'i reçeteli ilaçlara, kimyasallara ya da radyasyona bağlıdır (114). Annenin tütün kullanımının üreme sağlığına etkisi birçok çalışmada konu edilmiştir (115). Sigara yüzlerce bilinen ve bir o kadarda bilinmeyen toksik madde içerdiği için değerlendirilmesi kompleks bir konudur. Nikotin vazoaktif bir maddedir ve plasental ve fetal dolaşıma zarar verdiği inaniılmaktadır. Karbon monoksit ise fetal ve maternal oksijen kaynaklarını tüketmektedir. Kurşun ise zaten bilinen bir nörotoksindir. Bütün bunlara rağmen annenin sigara kullanması spontan abortusu riskini hafif düzeyde arttırmaktadır.

2.4.6. ENDOKRİN NEDENLER

2.4.6. a.Diabetes Mellitus (DM)

DM olan kadınlar metabolik kontrolleri iyi olduğu sürece normal kadınlardan daha fazla abortus yaşamazlar (116, 117). Ancak DM olan ve ilk trimestirde yüksek glukoz ve HbA1c düzeyleri olan kadınlarda hem fetal kayıp hem de fetal anomali oranı belirgin olarak artmıştır (65). Glukoz kontrolü yetersiz olan insülin kullanan DM'li kadınlarda normal topluma göre 2 ya da 3 kat artmış spontan abortus oranı mevcuttur (64). Herhangi bir zamanda bakılan glukoz düzeyi normalin üstünde olmadıkça asemptomatik kadınların diabet taramasına gerek yoktur. Eğer hastada açıklanmayan fetal kayıp varsa ya da DM klinik bulguları varsa araştırmak gerekir.

2.4.6 b.Tiroid Bozuklukları

Tiroid bozukluklarının habituel abortusla ilişkisi olduğuna dair direk bulgu bulunmamaktadır. Ancak antitiroid antikorların bulunması genel bir otoimmün

hastalığın bulunması için uyarıcı olabilir (51). Hasta semptomatik olmadıkça tiroid hastalıkları için taramaya gerek yoktur.

2.4.6. c.Düşük Progesteron Düzeyi

Progesteron proliferatif bir endometriumun sekretuar endometriuma dönüşmesi için birincil gerekli faktördür. Bu değişim endometriumu embriyonun implantasyonuna uygun hala getirir. 1929 yılında Allen ve Corner'in korpus luteumun fizyolojik görevlerini özetledikleri çalışmalarının yayınından bu yana düşük progesteron düzeyleri habituel abortuslar için suçlanmıştır.

Trofoblastların steroidogenik kapasitesini kazandığı 7. Gebelik haftasına kadar luteal desteğin önemi büyüktür. Yedinci gebelik haftasından önce korpus luteumun ortamdaki uzaklaştırılması gebeliğin düşüğü ile sonuçlanır. Eğer bu hastalara ekzojen progesteron verilirse düşük önlenir.

RU 486 adlı progestin ile yapılan deneyler göstermiştir ki bu ilaç son adet tarihine göre 56 günlük gebelikleri bile düşükle sonlandırabilmektedir.

2.4.6. d.Luteal Faz Bozuklukları

Jones ve arkadaşları ilk olarak 1943 yılında yetersiz luteal progesteron üretiminin infertilite ya da erken gebelik kaybı ile sonuçlanabileceğini bildirmişlerdir. Bu hastalık korpus luteumun kalitatif ya da kantitatif bozukluğu sonucunda endometrial maturasyonun olmamasıyla sonuçlanır. Bu durum habituel abortuslu kadınların %23'ü ile 60'ı arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (118).

Luteal faz defektinin tanısı için kullanılan yöntemler arasında bazal vücut ısı ölçümü, progesteron düzey ölçümü ve endometrial biopsi örneklerinin histolojik zamanlaması kullanılmaktadır. Standart olan tanı yöntemi luteal fazda yapılan endometrial biopsidir. Histolojik incelemenin insan bağımlı bir yöntem olması nedeniyle bu değerlendirmede standartlaşmamaktadır. Asıl amaçlanan biopsi gününde ovülasyonun üzerinden kaç gün geçtiğinin biopsi ile saptanmasıdır. LH zirvesinin olduğu güne göre hesaplandığında geçen günle endometrial olgunlaşma arasında 2 günden fazla uyumsuzluk varsa tanı koydurur. Tedavide klomifen sitrat, vajinal progesteron supozituarları, prolaktin düzeyleri yüksekse bromokriptin veya HCG ile luteal faz desteği kullanılabilir.

Son zamanlarda çalışmalar daha çok, preovulatuvar endokrin olaylara bağımlı olan luteal fazın kalitesine odaklanmıştır. Özellikle folliküler fazdaki LH yüksekliğinin, folikül gelişimini bozabileceği üzerinde durulmuştur (119). Gebelik ncesi foliküler faz LH düzeyleriyle, gebeliğin prognozu arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada, 8.günde yüksek LH düzeyleri gösteren hastalarda, düşük sıklığını %12 olarak bulunmuştur (120). Yazarlar, foliküler faz LH lmlerinin sonraki gebelikte düşük olma olasılığını tahmin etmede önemli bir test olduğu sonucuna varmışlardır. Bu durumun tedavisinde GnRH analogu ile baskılama sonrası hMG ile ovulasyon indüksiyonu önerilmektedir.

Günümüzde dikkatler polistik over sendromu (PCOS) ve insülin direnci ile tekrarlayan gebelikler arasındaki ilişkiye odaklanmıştır. Artan insülin direnci artan düşüklerle ilişkili bulunmuştur ve tekrarlayan gebelik kaybı olan olgularda yaygın olarak tespit edilmiştir. İnsülin direncinin tekrarlayan düşüklere yol açma mekanizması bilinmemektedir.

Artan LH düzeyleri ve hiperandrojenizm tekrarlayan düşüklerle ilişkili bulunmuştur. Bu iki durum da PCOS ile ilişkilidir. LH'nın artmış serum derişimleri erken oosit olgunlaşması ve luteinizasyonu uyarır. Tekrarlayan düşük yaşayan kadınların %8'inde midfollikler faz LH düzeyi yüksek (≥ 10) bulunmuştur (120).

Desidual Bağışıklığın Endokrin Yönetimi

Endometriyumun 'desidua'ya dönüşmesi uterus mukozası üstündeki tüm hücre tiplerini etkiler. Bu şekilsel ve işlevsel değişiklikler implantasyonu kolaylaştırdığı gibi trofoblast invazyonuna yardım eder ve maternal dokunun aşırını invazyonunu engeller. İlgi çekici olan kısım ektravillz trofoblastların uterus mukozasını kaplayan lökositlerle olan ilişkisidir. Bu hücrelerin çoğu büyük granüler lenfositler ve makrofajlardır; çok az sayıda T ve B hücreleri de mevcuttur. Burada görülen büyük granüler lenfositler (BGL) atipiktir; bunlar Doğal ldrc hücrelerinin belirleyicisi olan CD 56 için kuvvetli boyanırlar, ama CD 16 ve CD 3 doğal öldürücü hücre belirleyicilerini eksprese etmezler. Bu ilginç tip NK hücreleri özellikle progesteron etkisindeki endometriyumda yoğun olarak bulunurlar. Proliferatif evredeki endometriyumda CD 56 pozitif hücreler azalırken, midluteal fazda artış gösterir ve geç sekretuar fazda zirve yaparlar. Bu bulgular da BGL'in hormonal kontrol altında olduğunu düşündürür. Bu durum için progesteron varlığı

zorunludur; BGL artışı menarş öncesinde, menapoz sonrasında ya da endometrial hiperplazi ve karsinom gibi karşılanmamış estrogen yoğun ortamlarda bulunmaz. Ooferektomi geçiren kadınlarda endometriumda BGL saptanabilmesi için mutlaka ekzojen estrojenden ve progesteron verilmelidir. İlk trimesterde implantasyon alanındaki yoğun NK hücreleri gebeliğin devamı için gerekliliklerini gösterir. Bu hücreler HLA ekspresyonu çok azdan ya da hiç olmayan hücreleri hedefler (100, 102, 122). HLA I'in farklı formlarını eksprese eden ekstravillöz trofoblastlar; NK hücrelerinin öldürücü etkisine dirençlidirler ve bu sayede de normal plasentasyon için gerekli invazyon mümkün olur. Bu CD 56 hücreleri büyük ihtimalle uterus içindeki öncül hücrelerden gelişirler çünkü bu hücrelere periferik kanda yok denecek kadar az rastlanır (122).

Bir Allograft Olarak Placenta: Koryonik kese plasentanın bir kısmını oluşturduğundan, hem babaya hem de anneye ait genlerin geçtiği gebelik ürünü anne tarafından uterus içerisinde bir allograft olarak algılanabilir. Annenin immün sisteminin rejeksiyonundan plasentayı koruyan nedir? Bu soru embriyologlar ve immünologları uzun süre şaşırtmıştır. Bundan sorumlu olan etken ya da etkenler halen araştırmaya açık bir konu olarak kalmıştır. Yüzen koryonik villusların sinsisyotrofoblast hücrelerinde majör histocompatibility (MHC) antijenlerinin bulunmayışı, rejeksiyon cevabını uyandırmaz (123, 124, 125). Bununla beraber bağlanan vilusları oluşturan ve uterus desidual dokuyu invaze eden ekstravillöz sitotrofoblast hücreleri Class I MHC antijenlerini (HLA-G) eksprese etmektedir (125). Bu hücreler desidua içerisinde maternal immün hücrelerin iki tipine T lenfositler ve natural killer (NK) lenfositleri maruz kalmaktadır ve bu nedenle immün saldırının potansiyel olarak hedefidirler (125). Bu hücrelerin korunmasının en az iki mekanizma yoluyla gerçekleştirildiğine inanılmaktadır: İki başlıca ekstravillöz trofoblast yoluyla eksprese olan, class I MHC antijenleri (HLA G)' nin polimorfik olmayan yapısı (127, 128) bu antijenleri T lenfositler tarafından zayıf olarak tanınabilir hale getirir ve onların killer (öldürücü) fonksiyonunu saptırarak, yine nihayet NK hücreleri tarafından tanınabilir hale getirir (123, 129, 130).

2.4. 7.TROMBOFİLİK BOZUKLUKLAR

Tekrarlayan düşük vakalarının birçoğunda plasentasyon bozukluğu ve plasenta damar yapısı içinde mikrotrombüsler saptanır. Koagülasyon ve fibrinolitik

yolların birçoğu embriyonun plasantasyonu ve trofoblastların invazyonu sırasında görev alır. APA ve tekrarlayan düşük arasındaki ilişki artık kanıtlandığı için ilgi bu gebelik kayıplarından sorumlu olabilecek diğer hemostatik bozukluklara yönelmiştir.

Gebelik zaten kendi başına bir hiperkoagülatif durumdur. Bunun nedenleri ise;

- 1- Prokoagulan faktörlerin düzeyinde artışı
- 2-Doğal antikoagulanların düzeyindeki azalma
- 3-Fibrinolizdeki azalma, olarak sıralanabilir.

Faktör VII, VIII, X ve fibrinojenin düzeyleri gebelik boyunca, 12. haftadan başlayarak yükselir (131). Buna karşın antitrombin III, protein C ve S ise koagülanları dengeleyecek oranda artmaz. Protein S düzeyleri % 40-50 oranında düşerken antitrombin III ve protein C düzeyleri sabit kalır. Fibrinolitik aktivite de değişir ve plazminojen aktivatör inhibitörü 1 (PAI-1) ve plazminojen aktivatör inhibitörü 2 düzeyleri gebelik boyunca sürekli artar. PAI-1 endotelyal hücreler tarafından salgınır ve plasminogen aktivatörünü engeller. Trombosit uyarılmasında da belirgin bir artış görülür, tromboksan üretimindeki artış prostasiklinin trombosit kümeleşmesini engelleyici duyarlılığındaki azalma etkisine karşı trombosit sensitivitesindeki azalma gebeliğin protrombotik durumuna katkıda bulunur. Gebelikteki hemostatik değişiklikler koagülasyonu tetikler.

Ürokinaz plazminojen aktivatörü (UPA) implantasyon sırasında aktif olan bir ajandır. Bu ajan plazminin aynı bölgedeki üretimini arttırarak ekstraselüler matriksin parçalanmasına ve implantasyonun kolaylaşmasına neden olur. UPA aynı zamanda maternal venöz sinüslerde de bulunur ve bu sinüslerin devamlılığını sağlar. UPA reseptörleri insan trofoblast hücrelerinde birinci trimestr boyunca eksprese edilir. Bu durum özellikle aktif invazyon yapmayan bu hücrelerin maternal plazmayla karşılaştıkları yüzde plazmin üretimini arttırarak intervillöz boşluklarda fibrin birikimini engelleyen hücrelerde görülür.

PAI-1 ve 2 invazif trofoblastlara yerleşiktir. Bu bilgilere göre trofoblast invazyon ve implantasyonu plazminojen aktivatörleri ve inhibitörleri arasındaki denge ile düzenlenmektedir. Tekrarlayan düşüğü olan, preeklampsili ve IUGR’li gebelerin plasentalarından yapılan plasental yatak biyopsilerinde spiral arterlere olan trofoblast invazyonunun bozuk olduğu saptanmıştır.

Normal plasentada hemostatik, fibrinolitik, ve protein C bağımlı antikoagulan (Faktör V Leiden) yolaklar mevcuttur ve bunlar hemostazın devamlılığını sağlarlar. Anormal gebeliklerde fibrinin plasental dağılımında değişmiştir ve sitokinler gibi bazı faktörlerin üretimi normalde tromboza dirençli olan endotelin trombozu tetikleyen bir endotele dönüşmesine yol açar. Bu teoriyi destekleyen diğer bulgu da maternal dokuyla temasta olan koryonik villuslarda fibrin birikiminin görülmesidir. Maternal dokunun da birçok hemostatik faktör ve ürün içerdiği de bilinmektedir. Bu mekanizmalar normal villuslarda sağlamdır. Birçok çalışmayla kanıtlanan bir bulgu da tekrarlayan düşükklü kadınların sadece gebelikte değil, gebe değilken de koagülasyona eğilimli bireyler oluşudur.

Tromboksanın prostosikline oranındaki bu kayma vazospazm ve trombosit agregasyonuna yol açmaktadır, bu da mikrotrombüsler ve plasental nekroza yol açar. Protein C ve fibrinopeptid A düzeylerinde de düşüklerden hemen önce bir düşüş görülmekte bu da koagülasyon mekanizmasının uyardığını göstermektedir.

AKTİVE PROTEİN C REZİTANSI

Trombofililer başlığı altında toplanan bir grup bozukluk normalde pıhtı oluşumunun üzerinde bulunan kontrol mekanizmasının kaybı sonucu tehlikeli klinik tablolara yol açabilen hastalıklardır.

Koagülasyon sistemi damar ve hücre yüzeylerindeki birbirleriyle etkileşen birçok enzim içeren bir yapıdan oluşur. Vücutta patolojik pıhtı oluşunu etkileyen bir takım mekanizmalar vardır, bunlar arasında antitrombin III, Vitamin K bağımlı protein C sistemi ve en son olarak varlığı kanıtlanan ‘Tissue Factor Pathway Inhibitor’ (TFPI) sayılabilir (132, 133).Koagülasyon sisteminin her basamağının bir inhibitör mekanizma sayesinde kontrolü kusursuz bir işleyişe imkan verir.

Antikoagülan ve antitrombüs mekanizmaların genetik geçişli bozuklukları içinde Antitrombin III eksikliği, Protein C ve S eksiklikleri, displazminojemiler, disfibrinojemiler, Homosistinüri sayılmaktadır. Klasik bilgiler dahilinde bulunan bu tip hastalıklar dışında antifosfolipid sendromu gibi bir çok kazanılmış hastalık da bilinmektedir (133, 134).

Aktive Protein C rezistansı, koagülasyon mekanizmasında görevli faktör V adlı proteini kodlayan genin, 1691. nüleotid pozisyonundaki guaninin adeninle yer değiştirmesine bağlı genetik geçiş gösteren (Otozomal Dominant), bir hastalıktır.

Bu mutasyon Aktive Protein C (APC)'nin Faktör V üzerindeki bağlanma yerlerinden birinde bozulmaya sebep olur. APC sağlam halinde koagülasyon faktörleri Va ve VIIIa'yı kofaktör protein S varlığında etkisizleştirir. Mutant Faktör V APC ile etkisizleştirilemez, bu da artmış pıhtı oluşumu ve meyilli bir ortama yol açar (135, 136). Faktör V leiden mutasyonu olarak da adlandırılan bu hastalıkta sağlıklı insanlara göre, homozigotlarda 50-100 kat, heterozigotlarda ise 5-10 kat artmış pıhtılaşma eğilimi vardır. Sağlıklı kontrol topluluklarında Faktör V Leiden mutasyonu sıklığı Batı Avrupa ülkelerinde % 3-7 oranında bulunmuştur, bu rakamın dünya üzerindeki genel ortalamasının % 3 olduğu bildirilmektedir (137) Cerrahi işlemler, hareketsizlik, diğer antikoagülan bozuklukları, ve pıhtılaşmaya eğilim yapan nedenler heterozigotlarda morbiditeyi artırır. Gebeliğin de pıhtılaşmaya eğilimin arttığı fizyolojik bir durum olduğu düşünülürse yukarıda özetlenen trombofilik bozuklukların gebelik komplikasyonları açısından önemli etkilerinin olabileceği açıkça ortaya çıkmaktadır (138, 139).

APC rezistansı gösterilen vakaların %80'inde Faktör V Leiden mutasyonu saptanmaktadır. Faktör V Leiden mutasyonu ile birlikte protein S, ve protein C eksikliğine bağlı trombofililerin, çeşitli gebelik komplikasyonları ve tekrarlayan düşük etyolojisinde önemli yer tuttuğu yeni yayınlarla savunulmaktadır (140, 141).

APC rezistansının tanısı için en uygun yöntem koagülasyon-tabanlı bir tarama ve mutasyonu saptamak için DNA testidir. Bu iki yöntem birbirini tamamlar çünkü biri işlevsel diğeri genetik testtir. İşlevsel testlerin duyarlılıkları son yıllarda %99'un üzerine çıkmış ve nerdeyse genetik test yerine kullanılabilir hale gelmiştir. Bu özellikle tarama açısından umut vericidir.

ÖZGÜL KOAGÜLASYON FAKTÖR BOZUKLUKLARI

Faktör XII eksikliği (Hageman) sistemik ve plasental pıhtılaşmayla gider ve %22'ye varan oranlarda tekrarlayan düşüğe yol açar.

ANORMAL HOMOSİSTEİN METABOLİZMASI

Homosistein, metyoninin sisteine dönüşümü sırasında oluşan bir aminoasittir. Hiperhomosistinemi konjenital ya da kazanılmış bir hastalık olabilir ve tromboz ile prematür vasküler hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Bu hastalık tekrarlayan düşük ile ilgilidir, bir çalışmada hiperhomosistinemili kadınların %22'sinde tekrarlayan düşük mevcut olduğu bulunmuştur. Sonradan kazanılmış formun en sık

biçimi ise folat eksikliğidir. Bu hastalığın tedavisi ve literatür sınıflaması da trombofililer içinde gruplanarak yapılmaya başlanmıştır.

2.5. ÖYKÜ

Tüm önceki gebelikleri ve sıralarını tanımlamak, düşük dokularında histolojik veya karyotip değerlendirmenin yapıp yapılmadığını saptamak öykünün önemli kısımlarıdır. Tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan kadınların çoğunun takip eden gebeliğindeki düşüğü hemen hemen aynı gebelik haftasında oluşur.

Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftler arasında herhangi bir infertilite veya zor gebe kalma öyküsünün olup olmadığının sorulması gerekir. Tüm çiftlerin %15'i bu kritere uyarken tekrarlayan düşüklü olgularda bu oran %33'e çıkar. Hastalara menstrüel döngü öyküsü sorularak oligo-anovülasyon, kendisinde veya ailesinde trombotik olayların varlığını renal anormalliklerin olup olmadığı ve yine ailede gebelik kaybı ve obstetrik komplikasyonlar üzerinde durulmalıdır. İlaç ve diğer çevresel ajanlara maruziyet sorgulanmalıdır (1). Diğer ilişkili endokrin anormallikler hakkında bilgi sağlanabilir. Fetüsün ölümü ve düşüğün belirtileri arasında çoğunlukla 2 veya 3 haftalık bir gecikme olabilir (142).

2.6. FİZİK MUAYENE

Genel bir fizik muayene PCOS'u içeren metabolik hastalıkların, diabetin, hiperandrojeneminin, tiroid veya prolaktin bozukluklarının bulgularını tanımak amacıyla yapılmalıdır. Pelvik muayene sırasında enfeksiyon bulguları, DES maruziyeti, veya daha önceki travmaların izleri aranmalıdır. Servikal ve vaginal anatomi ile uterus boyut ve şekli de değerlendirilmelidir.

2.7. LABORATUVAR

Tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerin laboratuvar değerlendirmesi şunları içermelidir:

1. Ebeveynlerden karyotipleme tayini yapılması
2. Uterus boşluğunun kavitenin HSG veya histereskopi ile değerlendirilmesi
3. Menstrual döngünün 24. gününden sonra iyi zamanlanmış endometriyum biyopsisi (günümüzde pek yapılmamaktadır).
4. Tiroid hormon testleri

5. Trombosit sayı ve fonksiyonu
6. Antikardiolipin ve lupus antikoagülan testleri

Geçerliliği veya kullanımının yararları kanıtlanmamış testler:

1. Over rezervinin siklusun 3. günü FSH veya klomifen sitrat sataşma testi ile değerlendirilmesi.
2. LH veya androjen seviyeleri kullanılarak PCOS'un tanımlanması.
3. TH1 ve TH2 sitokin kontrol bozukluğunun periferik kanıtlarının araştırılması.
4. aPTT kullanılarak hiperkoagülapatinin araştırılması veya kalıtsal trombofililerin araştırılması.
5. Antitiroid antikorların araştırılması tartışmalıdır.
6. Lupus antikoagülanı ve antikardiolipin antikoru dışındaki çeşitli otoantikorların (antifosfatidilserin, anti- β 2 glikoprotein) araştırılması tartışmalıdır.
7. Kalıtsal veya akkiz homosistein metabolizma bozukluklarının araştırılması.
8. Mikoplazma, Üreoplazma ve Klamidya için servikal kültürlerin alınması (1).

Gebelik sonrası değerlendirme

Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastalarda gebeliğin oluşmasından sonra psikolojik destek, gebeliğin canlı ve uterus içinde olduğunun kanıtlanması açısından yakın takip önerilir. Tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olanlarda ektopik gebelik sıklığı ve komplet molar gebelik olasılığı artmıştır (143). Ultrason değerlendirmesi yapılana kadar serum β -hCG seviyelerinin takibi erken gebeliğin değerlendirilmesinde yararlı olabilir. Erken gebeliğin değerlendirilmesinde en iyi yöntem ultrasonografidir. Eğer kullanılacaksa seri serum β -hCG ölçümüne son geciken menstrüasyon tarihinden, ultrasonografinin uygulanıp kan örneklemesine son verilebilecek olan 1500 mIU/ml seviyelerine kadar devam edilebilir. Takiben, daha önceki gebeliklerin düştüğü gebelik haftasına kadar iki haftada bir ultrason yapılır (144).

Menstrüel ve ultrasonografik zamanlama ile gebeliğin 6-7 haftalık olduğu kanıtlandıysa ancak, fetal kardiyak aktivite gösterilemediyse gebeliği sonlandırmak ve karyotipleme için doku örneği elde etmek amacıyla girişim yapılmalıdır. Tekrarlayan gebelik kaybına maruz kalan hastalarda fetüs öldükten sonra dahi karyotipleme için doku örneklemesinin önemi gözardı edilemez. Sonuçlar

ebeveyndeki bir karyotip anormalliğini düşündürebilir. Anöploidinin tanınması önemli prognostik sonuçlar doğurabilir ve gelecekteki girişimlere yön verebilir (145).

2.8. TEDAVİ

Tekrarlayan gebelik kaybı olan hastaların tedavisindeki gelişmeler maalesef çok yavaş olmuştur. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar aslında tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan hastaların çoğunun bir daha ki gebeliklerinin başarılı olacağını bulmuştur. Bazı istisnalar dışında tekrarlayan gebelik kaybı için uygulanan tedavilerin çoğunluğu deneysel kabul edilmelidir.

Genetik Anormallikler

Tekrarlayan düşüğe sebep olma ihtimali olan ebeveyn kromozom bozukluklarını doğrudan hedef alan tedaviler henüz yoktur. Genetik anormallik nedeniyle tekrarlayan düşükleri olan olgularda, implantasyon öncesi genetik tanı (PGT) dahil olmak üzere tüm yardımcı üreme tekniklerinin kullanılma endikasyonu oluşabilir. PGT laboratuvar ortamında olgunlaştırılmış embriyodan tek bir hücrenin alınmasını içerir. Bu hücre üzerinde bariz bir kromozom bozukluğu veya özel bir genetik hastalığın varlığı açısından genetik testler uygulanabilir. Genetik anormallik tanısı alan embriyoların uterus kavitesine yerleştirilmesi tercih edilmez. Genetik olarak normal olanların uterus içine transferinin uygun olduğuna karar verilir (146).

Homolog kromozomlarda Robertson translokasyonu içeren hastalardaki genetik anormallik hemen her zaman aneuploid embriyoyla sonuçlanır. Bu yüzden etkilenen çiftte göre oosit veya sperm bağışının kullanılması tavsiye edilir (147).

Anatomik Anormallikler

Histeroskopik septum rezeksiyonu, uterus içindeki adhezyonların histeroskopik kesilmesi, endometriyum poliplerinin ve submüköz myomların histeroskopik olarak çıkarılması anatomik bozukluğa bağlı tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda yapılan operasyonlardır. Bicornuat uterus ve uterus didelphista bu cerrahi prosedürler yapılmaz. Bikornuat uterusu metroplasti yapılabilir. Bunlarda servikal serklaj yapılabilir. Uterin kaviteyi distorsiyone eden büyük myomlar çıkarılmalıdır (148). Servikal yetmezliğe bağlı ikincil gebelik kaybı hikayesi olanlarda servikal serklaj endikasyonu vardır. Bu işlem genellikle 2. trimesterin

erken döneminde fetüsün canlı olduğundan emin olduktan sonra yapılır. DES'e bağlı uterus anormalliği olan kadınlarda servikal serklaj ilk seçenek olmalıdır. Eğer ilk tanısal değerlendirme sırasında endometriozis saptanırsa tedavi edilmelidir (1).

Endokrin Bozukluklar

Progesteronun postovulatuvar yada erken gebelik döneminde yetersiz salınımı düşüklerle ilişkili bulunmuştur. Bu olgularda gebeliğin erken dönemlerinde progestasyonal ajanlar kullanılabilir. Bir metaanalizde sporadik düşükleri olan kadınlarda progesteron kullanımının düşük oranını azaltmadığı belirtilmiştir. Ancak; bazı yayınlarda tekrarlayan gebelik kayıpları olan hastalarda progesteron kullanımının yararlı etkileri gösterilmiştir. Progesteron, TH 1 ve TH 2 sitokin cevabını değiştirerek immün modülatör etki de gösterir. Yararlı etkileri bundan kaynaklanıyor olabilir (149). Metformin gibi insülin duyarlaştırıcı ajanlar hiperinsülinemi azaltır. Birçok çalışmada PCOS'lu kadınlara gebelikleri sırasında metformin kullanımının düşük oranlarını azalttığı rapor edilmiştir (150- 155).

Enfeksiyonlar

Eğer bağışıklık bozukluğu veya kanıtlanmış bir enfeksiyonu yoksa, tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalarda ayrıntılı enfeksiyon etkeni araştırılması veya enfeksiyon tedavisi uygun değildir. Enfeksiyon ajanı bulunmuş olgularda ise uygun antibiyotiklerle her iki çiftin de tedavisi ve gebe kalmaya çalışmadan önce, tedavi sonrası kültürlerde etkenin yok edildiğinin kanıtlanması gerekir (156).

İmmünoterapi

Bağışıklık disfonksiyonu nedeniyle tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda, babanın veya başka birinin lökositleri üzerine yerleştirilen alloantijenleri kullanarak, annenin bağışıklık sisteminin uyarılması yöntemi geliştirilmiştir. Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı hastalarında lökosit bağışıklamasını araştıran en geniş deneme, Tekrarlayan Düşük (REMIS) çalışmasının bir parçasıdır. Bu tip tedavinin yararı kanıtlanmamış ve etkinliği konusunda çelişkili raporlar yayınlanmış olmakla birlikte, hastaların herhangi bir tedavi başlanmasını istemesi üzerine baba lökositlerinin transfüzyonu yapılmıştır. Bu tip bir tedaviden fayda görebilecek kişilerin ayırt edilmesine yararlı olabilecek bir klinik veya laboratuvar yöntemi yoktur. Ayrıca, lökosit bağışıklaması hem anne hem de fetüste ciddi bir risk oluşturmaktadır (157).

Düşüğün antifosfolipit antikorlara veya implante olan fetusa karşı oluşan uygunsuz hücresel bağışıklığa bağlı olduğuna inanılan olgularda, bağışıklığı baskılayıcı tedaviler önerilmiştir (158).

İntravenöz immunglobulin: Açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarında IVIG kullanımının yararlı olabileceğini gösteren bir kanıt yoktur. Ancak, antifosfolipit antikor sendromu ile ilişkili otoimmün nedenli gebelik kaybı olan hastalarda IVIG tedavisi sonrası gebelik sonuçlarında iyileşme görülebilir. Bu yöntem, pahalı, invaziv ve gebelik boyunca birkaç iv. infüzyona gereksinim gösteren zaman alıcı bir yöntemdir (158).

Progesteron: Bağışıklığı baskılayıcı etkileri vardır. İn vitro hücre sistemlerinde yapılan çalışmalar progesteronun ya TH 1 bağışıklığını baskıladığı ya da TH1'den TH2 tipi cevaba doğru kaymaya yol açtığını göstermiştir. Vaginal uygulama ile sağlanan lokal, intrauterin progesteron konsantrasyonu artışının, sistemik uygulamadan iyi olduğu düşünülmüştür. Progesteronun T hücre kontrol bozukluğuna bağlı gelişen veya açıklanamayan tekrarlayan gebelik kayıplarındaki etkinliği tam olarak araştırılmamıştır (1):

Kortikosteroidler: Prednizon gibi kortikosteroidlerle genel bir bağışıklık baskılanması tekrarlayan gebelik kaybı ve Antifosfolipid antikor sendromu olan hastaların tedavisinde önerilmiştir. Kortikosteroidlerin kullanımı umut vermişse de maternal ve fetal yan etkileri ve alternatif tedavilerin varlığı kullanımını sınırlamıştır (159).

Koagülasyon Bozuklukları ve Trombofililer için Tedavi:

Düşük doz aspirin (60-150 mg/gün) kullanımı trombosit ve makrofajlarda siklooksijenaz enzimini geri dönüşsüz biçimde engeller. Bu araşidonik asit metabolizmasında lipooksijenaz yoluna doğru bir kaymaya yol açar. Bu da prostasiklin üretimini bozmadan tromboksan üretimini inhibe eder. Aspirin ayrıca, IL-3'ün üretimini arttıran lökotrienleri uyarmakla ve böylece implantasyon ve plasental gelişimi sağlamaktadır.

Heparin kan pıhtılaşmasını 2 farklı mekanizmayla engeller. Sıklıkla tercih edilen dozlarda antitrombin III'ün Faktör XII, XI, IX, X ve trombin gibi uyarılmış pıhtılaşma faktörleri üzerindeki engelleyici etkisini artırır.

Yüksek dozlarda ise trombinin heparin kofaktör 2 tarafından inaktivasyonunu katalize eder. Heparin plasentayı geçmediği için fetus için risk oluşturmaz.

Heparin kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek en önemli yan etkiler uzun kullanımda osteopeni ve trombositopenidir. Trombositpeni heparin başlamasından sonraki birkaç hafta içinde oluşur.

Trombofililer ve önemli gebelik komplikasyonlarının ilişkisini değerlendiren klinik çalışmaların sayıları arttıkça bu hastaların tedavileri için önerilen metodlar ve farmakolojik ajanlarda kullanıma girmiştir. Bunlar arasında aspirin ve klasik ‘unfraksiyone heparinin’ (UH) yanısıra heparinin tromboz ve hemostaz bozukluklarında ki kullanımında alternatif olarak üretilen ve ‘düşük moleküler ağırlıklı heparin’ (DMAH) jenerik grubu olarak bilinen ajanlar da yer almaktadır. DMAH, UH’nin enzimatik parçalanması sonucu Antitrombin III üzerindeki etkiye sahip olan, ancak molekül ağırlığının parçalanma sonucu azalmasıyla farmakokinetiği değişen ve Antitrombin III üzerindeki etkinliğini koruyarak UH kadar antikoagulan etkiye sahip olan ve kullanım kolaylığına sahip olan, Anti F Xa ve Anti FII üzerindeki etkinlik farkı nedeniyle dozaşımında bile daha az kanama komplikasyonuna neden olan, etkinliğinin monitorizasyonuna gerek olmayan bir heparin türevidir. Piyasada enzimatik parçalanma yönetimi ve elde edilen etkin molekülünün ağırlığına göre birçok değişik DMAH türevidir. Trombofili nedeniyle oluşan gebelik komplikasyonlarının tedavisi için kullanılacak DMAH’ların molekül özellikleri, kullanım dozları ve gebelikte kullanımları mutlaka iyi bilinmelidir. Bu ajanlar hastanın kısa bir eğitim sonrası evinde kendisi ya da yakınları tarafından subkutan enjeksiyonla kullanılabileceği; hasta uyumunun yüksek olduğu ilaçlardır. Yukarıda ki bölümlerde anlatılan trombofili mekanizmaları hatırlanacak olursa; trombofilili hastalarda bozuk olan antitrombotik yolların işlevini DMAH kullanımıyla sağlamanın mümkün olduğu kolayca anlaşılır. Ancak; bu ajanların çok basit, her durumda, verilebilecek, hatta trombofili taraması ve tanısı olmayan gebelerde bile ampirik olarak uygulanabilecek ilaçlar olmadığı unutulmamalıdır. DMAH tedavisi tekrarlayan düşüğü olan hastanın takip sırasındaki ilk gebeliğinin teşhis edilmesiyle başlanır ve gebelik boyunca artan kan hacminin trimestirlere göre değişimi göz önünde tutularak doz ayarlaması yapılmalıdır. Çünkü; DMAH ‘ların hasta kilosuna göre etkinlik gösterdikleri ve

önerilen kullanım dozlarının gebe olmayan hastalarda ki klinik çalışmalar sonucu elde edildiği bilinmektedir (160). Gebe kalana kadar düşük doz aspirin tedavisi verip gebelikte birlikte DMAH geçilmesi de mantıklı bir yaklaşımdır. Özellikle trombofili tanılı tekrarlayan düşük olan hastalarının DMAH tedavilerinin tüm gebelik boyunca ve post partum periyotta da devam etmesi önerilir. Ailesel geçişli trombofililerden birisine sahip olduğu bu taramalarda gösterilen bir hastanın ailesi, hatta varsa yaşayan çocukları da trombofili taramasından geçirilmelidir. Unutulmamalıdır ki; başarıyla tedavi edilen ve sağlıklı doğum yapan trombofilik tekrarlayan düşüklü hastanın bu mutasyonlu geni yaşayan çocuğuna geçirmiş olma şansı olduğu gibi, kendi ebeveynleri arasında da homozigot olup 50-100 kat artmış bir tromboz riskinden habersiz cerrahi işlemler geçiren bir kişi olabilir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gerekli Malzemeler

3.1.1 Reaktifler

Kullanılacak Monoklonal Antikorlar

- CD45 / 14
- İzotipik kontrol
- CD4 / CD8 / CD3
- CD3 /CD 16+56
- CD5 / CD10 / CD19
- CD57 / CD16 / CD3
- CD103 /CD22 / CD20
- CD68
- HLA-G
- IgG_{1-kappa}

3.1.2. Diğer Malzemeler

- Flow cytometry cihazı (BD FACS Calibur 4-color, Becton Dickinson, San Jose, CA)
- Soğutmalı Santrifüj (Sigma 2-16)
- Ayarlanabilir Otomatik Pipetler (10µl, 100µl, 1000µl Eppendorf AG / Almanya)
- Uygun Pipet uçları (Greiner Bio One, Almanya)
- Deney Tüpleri (Round Bottom Tubes 12*75 mm, PS, BD Falcon, ABD)
- Soğuk PBS (Phosphate Buffered Saline) Ph:7.4 (BD, ABD)
- Spin Vortex (Biosan FV-2400, Rusya)
- Steri Distile Su (Eczacıbaşı, Türkiye)
- Masa Üstü Santrifüj (Sigma)
- Karanlık inkübasyon Ortamı
- % 5 CO₂ İçeren 37 °C ısı ısı inkübatör
- Laminar Airflow

- % 0,2'lik tip II Kollejenaz (Sigma Corp, St. Louis MO)
- HBSS (Hank's solüsyonu)
- % 0.025'lik Tripsin EDTA

3.2. YÖNTEMLER

Kocaeli Üniversitesi Klinik Araştırmaları Birimi (KABİ) tarafından desteklenen KKAEEK 2009 / 8 kodlu çalışmamız Üniversitemiz yerel etik kurulunda onaylandı. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum Anabilim Dalı'na başvuran 35 kadın çalışmaya dahil edildi. Çalışma grubundaki 35 kadını habituel abortusu olan hastalar oluştururken kontrol grubunu fertilité sorunu olmayan, daha önce abortusu olmayan 12 sağlıklı kadın oluşturmaktadır.

Çalışmaya 2 ya da daha fazla abortusu olan hastalar kabul edildi. Habituel abortusu olan gruptaki hastalara histerosalpingografi (HSG) ya da ofis histereskopi ile gösterilmiş uterin anomalisi olmayan, tanı konmuş Diabetes Mellitus (DM) olmayan, karyotip analizi normal, tiroid fonksiyon testleri normal, Faktör 5 leiden mutasyonu, protrombin mutasyonu olmayan, homositein ve HbA1C düzeyi normal olan hastalar kabul edildi. Kabul edilen hastaların eş zamanlı olarak son 2 yıl içerisinde çekilmiş HSG filmi yok ise ofis histereskopi ile uterin kavite değerlendirildi. Uterin anomalisi olan hastalar gruba dahil edilmedi.

Kontrol grubundaki kadınların, hiç düşük yapmamış, en az iki ardışık komplikasyonsuz gebeliği olan luteal biyopsiler, TVUSG takibi ve progesteron ile kanıtlanmış ovülasyon sonrasında alındı. Obstetrik öyküsünde hiç spontan abort olmaması ve düzenli menstrüel siklusu olan ancak RİA takırtmak için kadın doğum polikliniğine başvuran hastalar alındı.

Örnekleme yapıldığı gün ayrıca ovulasyonun indirekt göstergesi olması açısından hastaların serum progesteron düzeylerine de bakıldı.

Edometrial örnekleme steril karman kanül ve şırınga ile siklusun 20-24 günlere denk gelen midluteal dönemde yapıldı.

Her iki gruptaki hastalardan alınan endometrial örnekler flowsitometrik inceleme ve histolojik günleme için ayrıldı.

Histolojik inceleme ve günleme için Noyes klasifikasyonu esas alındı. Bu dönemde örnekleme yapılmasındaki temel amaç implantasyon olması muhtemel dönemde endometriumdaki doğal öldürücü hücre yoğunluğunun belirlenmesiydi.

3.3. DENEYİN GERÇEKLEŞTİRİLMESİ

3.3.1. İnsan Endometriumundan Hücre İzolasyonu

Hastalardan alınan endometrium doku biyopsisi %5 Penisillin / Streptomisin içeren HBSS içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Pens yardımıyla boş bir petriye aktarılan endometrium dokusu steril cerrahi makas ile 1 cm³'lük parçalara ayrıldı. HBSS içerisinde çözdürülmüş % 0,2'lik Kollajenaz Tip II solüsyonundan eklenerek 37°C su banyosunda 30 dakika enzimatik sindirim için inkübasyona bırakıldı. Üzerine HBSS eklenerek 1300 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra, pelet HBSS ile sulandırılarak 100 µm'lik hücre süzgecinden geçirildi. 1300 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmesinin ardından süpernatant atıldı ve % 0.025'lik Tripsin EDTA solüsyonunda 3 dakika 37°C su banyosunda inkübe edildi. Üzerine HBSS eklenerek 1300 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atılarak, pelet 1 ml HBSS ile sulandırılıp flow sitometri analizine geçildi.

3.3.2 İnsan Endometriumundan Elde Edilen Hücrelerin Flow Sitometri Aygıtında İncelenmesi

Antikor işaretleme: Desidual lenfositler (1x10⁶ hücre/100µl) 20µl FITC (fluorescein isothiocyanate)-konjuge anti-CD16 MoAb (Pharmingen, SanDiego, CA), PE-(phycoerythrin) konjuge anti-CD56 antikor (Pharmingen, SanDiego, CA) ve PerCPkonjuge anti-CD3 antikor (Becton Dickinson, SanJose, CA) ile işaretlendi

Akım sitometri: Akım sitometrisindeki analizler için hücrelerin sıvı içerisinde süspansiyon halinde bulunması gerektiğinden kan hücreleri, akım sitometride en çok incelenen hücreler olmuşlardır. Solid dokular ise hücreler disaggrege edilip hücre süspansiyonu hazırlanarak akım sitometrik analizlerde kullanılmaktadır. Hücreler yüzeylerinde ki veya hücre içindeki proteinlere özgün antikorlarla inkübe edilerek antijenlere bağlanmaları sağlanır. Her spesifik antikor FITC, PE, PerCP gibi floresan boya ile işaretlenmiştir. Böylece belirli antijene sahip hücrelerin lazer ışını ile karşılaştığında verdiği floresan sinyalleri değerlendirilerek o hücrelerin hangi spesifik antijeni taşıdığı belirlenebilir. Hücrelerin taşıdıkları antijenler yanı sıra hücre içi enzimlerin, DNA, RNA miktarlarının da uygun florokromlar ile işaretlenerek belirlenmesi mümkündür. Akım sitometrik incelemede farklı florokrom ile işaretlenen hücreler basınç altında “flow cell” denilen kısımdan

geçerler ve buradan lazer ısınma maruz kalırlar. Hücrelerin üzerine bağlanan monoklonal antikorlar lazer ısının abzorbe ederek üzerlerindeki florokromun özelliğine göre farklı dalga boylarında ışın saçarlar, her hücreden saçılan ışınlar çoklu dedektörler yardımı ile her hücre için ayrı ayrı belirlenir ve bu bilgiler bilgisayar ortamına aktarılır. Florokromların saçtığı ışınlar yanı sıra, hücreye çarpıp ileri doğru saçılan ve hücrenin büyüklüğü ile ilgili olan lazer ışınları (FSC) hücreden 90 derece açıyla yana saçılan ve hücrenin granülaritesi ve kompleks yapısı ile ilgili olan ışınlarla (SSC) ilgili veriler de aktarılmalıdır. Her hücre ile ilgili depolanan tüm bilgiler, analiz için hazırlanmış programlar yardımı bir çok parametreyi bir arada değerlendirecek şekilde analiz eder.

Antikor işaretli hücreler FACS Caliber (Becton Dickinson) akım sitometri ile analiz edildi. Üç renkli akım sitometride 488 nm de 15mW argon lazer kullanıldı. İlk kapı FS (forward scattered) ve SS (side scattered) nokta grafiklerdeki lenfositlere göre alınarak diğer hücreler dışlanır. Sonra çalışan FITC-, PE(fitokeratin) -, PerCP-konjuge antikorlar kullanılarak (konjuge monoklonal antikor). CD45 / 14, CD4 / CD8 / CD3, CD3 / CD 16+56, CD5 / CD10 / CD19, CD57 /CD16 / CD3, CD103 / CD22 / CD20, CD68, HLA-G, IgG_{1-kappa} ve uygun izotip kontrollerinden (IgG1, Ig G1/G2a) 10µl eklenerek inkübe edilmiştir (oda ısısında-karanlıkta-45 dak.). FL 1, FL 2, FL 3 sinyalleri alınmıştır. İkinci kapı CD3 lenfositlere göre alınmıştır. Diğer tüm antikorlu hücrelerin sonuçları bu lenfositlerin yüzdesi olarak hesaplandı. Antikor pozitif hücrelerin İnkübasyon sonrası yıkama solüsyonu (%0.1 sodyum azid içeren PBS) eklenmiş ve santrifüj edilerek (5dk. 1780rpm) artefaktlardan temizlenmiş ve 400µl hücre yıkama solüsyonu ile resüspanse edilmiştir. Hazırlanan hücre süspansiyonu FACS Calibur akım sitometri cihazında okutulmuş ve analizi *BD Cell Quest TM software* programı ile gerçekleştirilmiştir.

3.4. İSTATİKSİKSEL ANALİZ YÖNTEMLERİ

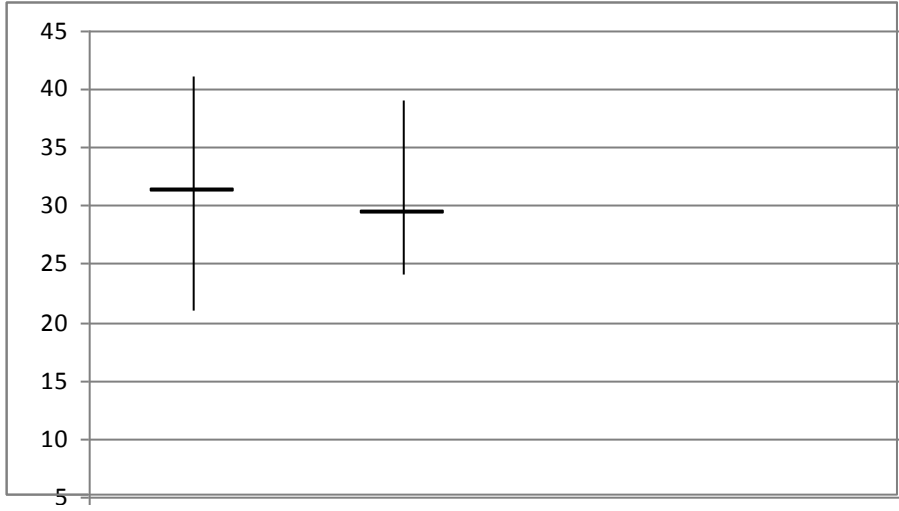
Tüm veriler SPSS 13.0 (SPSS Inc., Şikago, IL, Amerika Birleşik Devletleri) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Kategorik değişkenlerin dağılımı ki-kare testi ile sınıandı. Devamlı değişkenler eğer normal dağılıma uyuyorlarsa ortalama ve standart sapma, uymuyorlarsa en az en çok değer ve ortanca sunuldu. Devamlı

değişkenlerin iki grup arasındaki dağılımı normal dağılıma uyanlarda t- testi, uymayanlarda Mann Whitney U testi ile değerlendirildi. Bağlantı katsayılarının hesaplanmasında Spearman bağlantı katsayısı kullanılmıştır. 0.05'ten küçük ya da eşit p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

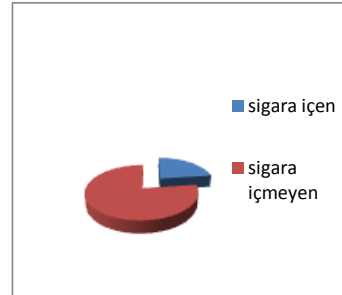
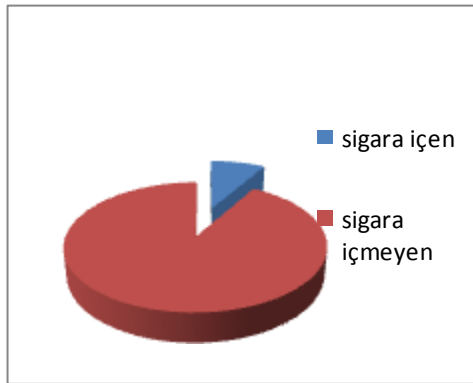
4. BULGULAR

Tüm hastalara aydınlatılmış onam formu alındı. Tekrarlayan düşükklü hastalarda yaş ortalaması 31.22, kontrol grubu yaş ortalaması 29.33 idi. (P= 0.212) olduğu için iki grup istatistiksel olarak farklı bulunmadı.

Tablo:4.1 Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması (p=0.212)



Habituel abortus grubunun meslek olarak 31 %88.6, kontrol grubunun dokuz kişi %75'i ev hanımı idi. Habituel abortus grubunda iki (%5.7) kişi işçi, iki kişi memur (%5.7), kontrol grubunda iki (%16.7) işçi, bir (8.3) memur bulunmaktaydı. Eğitim olarak 15 %42.9 ilkokul, üç (8.6) ortaokul, 14 (%40) lise, üç (%8.6) yüksekokul, kontrol grubunda iki (%16.7) ilkokul, iki (16.7) ortaokul, yedi (%58.3) lise, bir (8.3)'ü yüksek okul mezunu idi. Gebelik esnasında tekrarlayan düşükklü olgularda üç (8.6), kontrol grubunda bir kişi (%8.3) sigara kullanmaktaydı.(p>0.05)



Tekrarlayan düşükler; n=35

Kontrol grubu n=12

*Tekrarlayan düşükklü hastalarda sigara içimi *Kontrol grubu sigara içimi

Şekil 4.1: Habituel abortus ve kontrol grubunda sigara kullanımı

Habituel abortus grubundaki 35 hastanın 10'unda daha önce infertilite tedavisi ile gebelik elde edilmişti. Kontrol grubu ve tekrarlayan düşük grubunun hiç birinin özgeçmişinde koroner arter hastalığı, derin ven trombozu, serebrovasküler hastalık, miyokart infarktüsü ve DM, SVO bulunmamaktaydı.

Habituel abortus grubu ve eşlerinde alınan karyotip analizi sonucunda hiçbir hastada kromozom anomalisi saptanmadı.

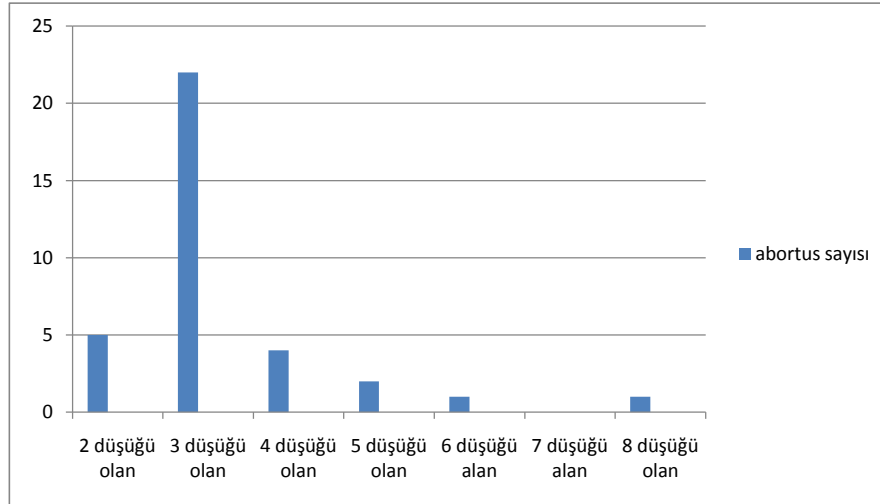
Habituel abortuslu hasta grubunda soy geçmişinde KAH dokuz (%25.7), HT on (% 28.6), MI yedi (%20), DVT bir (%2.9), SVO bir (%2.9), DM dokuz (%25.7), operasyon sekiz (%22.9), infertilite bir (%2.9), intrauterin fetal ölüm üç (%8.6), preeklampsi bir (%2.9), habituel abortus üç (% 8.6) izlenirken; kontrol grubunda KAH bir (%8.3), MI bir (%8.3), DVT, SVO, HT, habituel abortus, in uteroex ise izlenmedi.

Tablo: 4.2. Tekrarlayan düşük grubu ve kontrol grubunun obstetrik özgeçmiş.

	Tekrarlayan düşük n=35	Kontrol n=12
Gravida		
Maksimum	10	6
Minumum	2	2
Ortalama	3,65	2,58
Parite		
Maksimum	3	4
Minumum	0	2
Ortalama	0,34	2,08
Düşük		
Maksimum	8	0

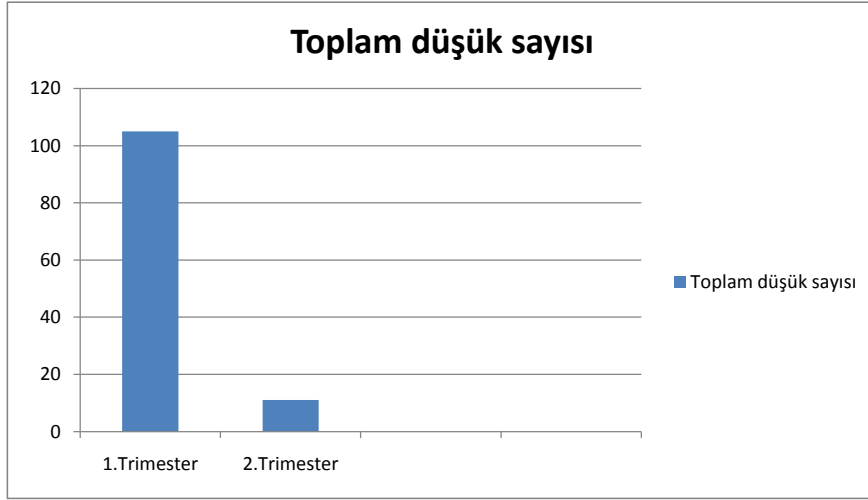
Minumum	2	0
Ortalama	3,2	0
İsteğe bağlı küretaj		
Maksimum	0	4
Minumum	0	0
Ortalama	0	0,5
Yaşayan		
Maksimum	2	4
Minumum	0	2
Ortalama	0,28	2,08

Tablo 4.3: Tekrarlayan düşük grubunda düşük sayılarının dağılımı



Hastaların gebelik haftasına göre düşük yaptıkları zaman haftaları 2-20 hafta arasında değişmekteydi. Düşük yapılan ortalama gebelik haftası 7.17 idi. Tekrarlayan düşük grubunda bir hastaya 12. haftada elektif serklaj uygulanmıştı.

Tablo 4.4: Abortların gebelik trimesterine göre dağılımı.



Tekrarlayan düşüğü olan hastaların Faktör V leiden mutasyonu 24 (% 68.6), 'te heterozigot mutasyon 4 (%11) hastada bulundu. , MTHFRc de 11 (%31.4) hastada mutasyon saptanmazken, 11'inde (% 31.4) heterozigot, altısında (% 17.1)'sında homozigot mutasyon saptandı. MTHFR 1298C 'de dört (%11.4) homozigot, 15 (%42.9) heterozigot, dokuz (%25.7)'sine ise mutasyon saptanmadı. Protrombin iki (%5.7)'sinde heterozigot, 26 (% 74.3)'ünde mutasyon saptanmadı. Faktör V'te iki (%5.7)'sinde heterozigot, 26 (%74.3)'ünde mutasyon saptanmadı. Faktör 13' te iki (% 5.7) homozigot, sekiz (% 22.9) heterozigot, 18 (% 51.4)' ünde ise mutasyon saptanmadı. Fibrinojen'de beş (%14.3) homozigot, 11 (%31.4) heterozigot, 12 (%34.3) mutasyon saptandı. HPA' da beş (%14.3) heterozigot, 23 (% 65.7) hastada ise mutasyon izlenmedi. PAL 5/5 üç (%8.6), 4/5 17 (48.6), 4/4

8(% 20)' sinde izlendi. APO E alleli, 3/3 20 (%57.1), 3/4 dört (%11.4), 2/3 iki (%5.7), 2(%5.7) ise izlenmedi.

Tablo 4.5: Tekrarlayan düşük grubunda trombofili mutasyonu.

Trombofiliik mutasyon	Yok N=	Homozigot N=	Heterozigot N=
Faktör V Leiden	24 (% 68.6)	0	4 (% 31.4)
Faktör V	26 (% 74.3)	0	2 (% 5.7)
MTHFRc	11 (% 31.4)	6 (% 17.1)	15 (% 42.9)
MTHFR 1298C	9 (% 25.7)	4 (% 11.4)	15 (% 42.9)
Protrombin	26 (% 74.3)	0	2 (% 5.7)
Faktör 13	18 (% 51.4)	2 (% 5.7)	8 (% 22.9)
Fibrinojen	12 (% 34.3)	5 (% 14.3)	11 (% 31.4)
HPA	0	5 (% 14.3)	23 (% 65.7)

Gebelik sırasında aspirin kullanan 14 (%40), folik asit kullanan 18 (% 52) kişi, düşük molekül ağırlıklı heparin kullanan yedi (% 20), progesteron kullanan 25 (%71.4) hasta bulunmaktaydı.

Habituel abortuslu hasta grubunda bakılan 25 protein C'nin 19'u (% 76) normal, 6'sı (% 24) yüksek olarak bulunurken test çalışılan hiçbir hastada düşük değerler bulunmadı. 24 hastada çalışılan protein S sonuçlarının hepsi normal olarak değerlendirildi. Çalışılan tüm PZ (Protrombin Zamanı) hepsi normal iken, a PTZ (aktive Protrombin zamanı) çalışılan 32 hastanın dördünde (%12.5) kısalmış, 28 (%87.5)' inde normal değerler bulundu. Homosistein bakılan 18 hastanın 14 (%77.8)'ünde normal bulunurken, dördünde (%22.2) yüksek olarak tespit edildi. Vitamin B12 bakılan 21 hastanın 15 (%71.4)'ünde normal bulunurken, altısında (%28.6) düşük olarak bulundu. Folik asit bakılan 21 hastanın 16'sında (% 76.2) normal olarak bulunurken, beşinde (% 23.8) yüksek olarak bulundu, hiçbir hastada düşük değer tespit edilmedi.

Tekrarlayan düşük grubunda luteal fazda alınan endometrial örnekleme 31 (% 88.5) hastada sekretuar endometriyum, üç (%8) proliferatif endometriyum, bir (%2) hastada ise basit atipisiz endometrial hiperplazi olarak rapor edildi. Kontrol

grubundan alınan endometrial örneklerin tümü sekretuar endometriyum olarak rapor edildi.

FLOWSİTOMETRİK ANALİZ SONUÇLARI

Tablo 4.6. Flow sitometrik analiz sonuçları

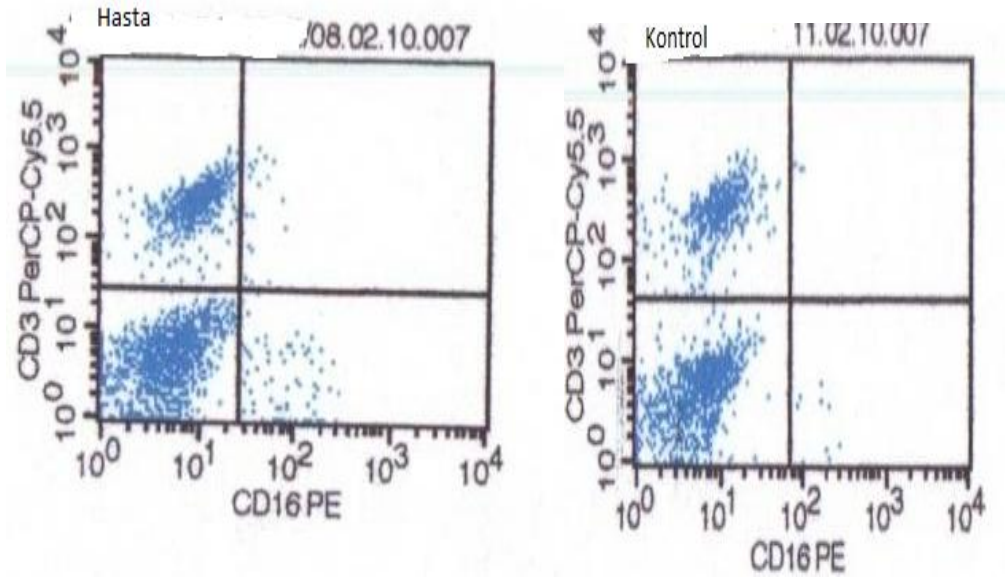
	TEKRARALAYAN DÜŞÜK GRUBU N=35 ORTALAMA (MAKSİMUM-MİNİMUM)	KONTROL GRUBUN=12 ORTALAMA (MAKSİMUM-MİNİMUM)
CD 45	30.6237 (82.76 – 0.52)	32.8875 (65.27-8.37) p=0.687
CD 14	0.5654 (6.86-0)	0.27 (0.93-0) p=0.911
CD 45+14	1.1343 (5.12 – 0)	0.6292 (1.28-0.12) p=0.097
sCD3	15.1083 (40.87 – 0.41)	16.1075 (36.71 – 4.58) p=0.550
*CD4	5.1963 (15.88 – 0)	6.1992 (13.95 – 1.12) p=0.288
*CD8	13.5591 (61.8 – 0)	8.2542 (22.35 – 1.39) p=0.558
CD 8 +3	7.0851 (21 – 0)	6.2667 (21.74 - 0.81) p=0.971
CD 4+3	1.8382 (10.76 – 0)	6,73 (12.54 – 3.40) p=0.012
CD4 sayısı	85.55 (274 – 0)	140.9 (341 – 7) p=0.054
CD8 sayısı	157.61 (730 – 0)	195.63 (449 – 9) p=0.250
CD16+CD5 6	4.95 (22.32 – 0)	4.7783 (12.16 – 0.32) p=0.634
CD3 +16+56	0.3980 (2.07 – 0)	0.2183 (0.63 – 0) p=0.222
CD 5	13.71 (30.48 – 0.22)	17.80 (44.07 – 5.43) p=0.373
CD 10	21.2360 (76.19 – 0)	28.9925 (69.16 – 4.04) p=0.176
CD 19	1.9857 (36.41 – 0)	1,4600 (6.1 – 0) p=0.305
CD 103	6.0646 (16.72 – 0.07)	7.6342 (15.46 – 2.83) p=0.176

	Habituel Abortsus Grubu n=35 Ortalama (Maksimum – Minumum)	Kontrol Grubu n=12 Ortalama (Maksimum – Minumum)
CD22	2.0326 (35.16 – 0)	1.3017 (5.11 – 0) p=0.393
CD20	1.9669 (30.74 – 0)	1.3192 (4.41 – 0.14) p=0.305
CD57	3.3183 (16.27 – 0.07)	1.6642 (5.09 – 0) p=0.241
CD16	0.5746 (4.01 – 0)	0.0808 (0.68 – 0) p=0.005
cCD68	2.0669 (13.81 – 0)	6,2625 (62.11 – 0.02) p=0.692
CD4	18.3215 (55.53 – 0)	29.3864 (39.19 – 8.61) p=0.018
CD8	30.5094 (69.23 – 0)	41.73 (59.11 – 9.01) p=0.174
CD4/CD8 Oranı	0.7475 (6.7 – 0)	0.7950 (1.14 – 0.13) p=0.033
HLA G	1,3433 (9.62 – 0.12)	1.4188 (6.28 – 0.13) p=0.571

İstatistiksel olarak p değeri 0.05'in altında anlamlı olarak kabul edildi. *CD4 ve *CD8 hücreleri CD 3 T Lenfositleri içindeki lenfositleri göstermektedir.

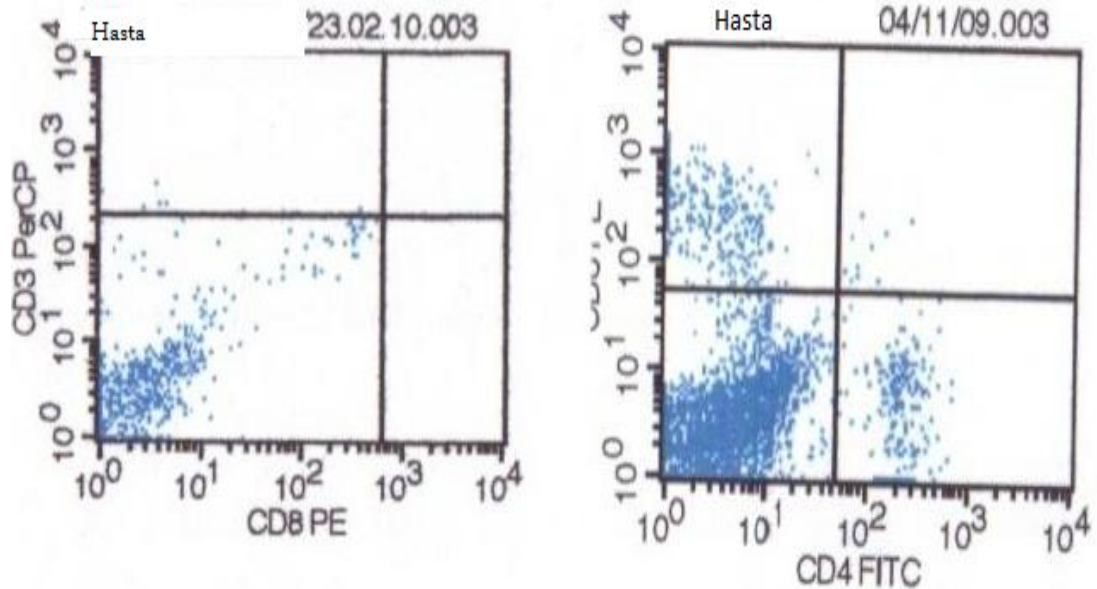
CD 45, CD14, CD45 + 14, s CD 3, *CD4, *CD8, CD 8 + 3, CD sayısı, CD 16+56, CD 3+ 16 + 56, CD5, CD 10, CD 19, CD 103, CD 22, CD 20, CD 57, cCD68, CD 8 sayıları tekrarlayan düşük ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi ($p > 0.05$).

CD 4 +3, CD4 sayısı, CD4 / CD8 sayılarının oranları, CD 16 sayıları tekrarlayan düşük ve kontrol grubunda anlamlı olarak farklı idi.

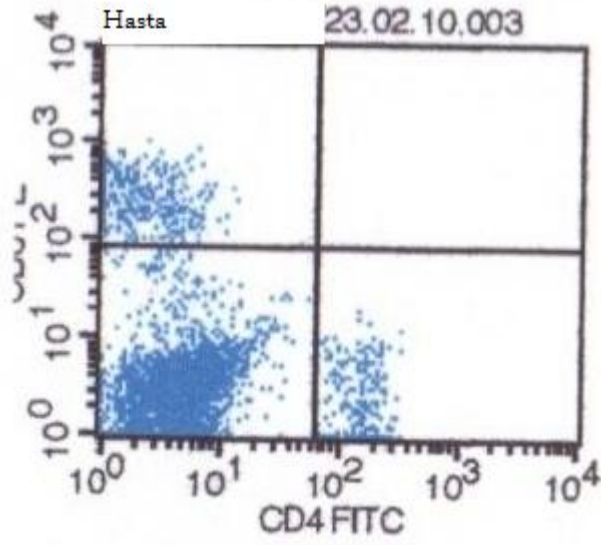


Şekil 4.2: CD 16 oranı yüksek ve normal olan hastamızın grafiği

CD 4+3 kontrol grubunda habituel abortus grubuna göre daha yüksek olarak tespit edildi. CD 4 sayısı hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olarak tespit edildi. CD 4 / 8 oranı habituel abortus grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. CD 16 hücreleri habituel abortus grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

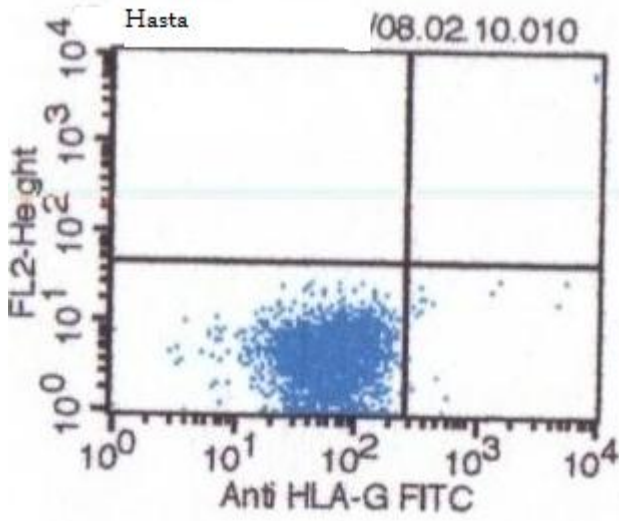


Şekil 4.3: CD 4 ve CD 8 hücrelerini gösteren grafik.



Şekil 4.4. CD 4+3 sayısı yüksek olan hastamızın grafığı

HLA G düzeyinde kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı olarak farklı izlenmedi.



Şekil 4.5 Normal HLA G değęrleri olan hastamız

Tablo 4.7: Habituel abortus ve kontrol grubunda hormon profili.

	Habituel Abortus Grubu (n= 35)			Kontrol Grubu (n= 12)		
	Maksimum	Minimum	Ortalama	Maksimum	Minumum	Ortalama
FSH (IU/ml)	7,48	1,85	4,04	11,50	1,50	4,3692 p=0.979
LH (IU/ml)	12,65	1,68	5,0233	10	1,18	5,0650 p=0.888
Progesteron (ng/ ml)	29,08	0,28	10,96	18,43	1,04	8,9750 p=0.355
Estrodiol (pg/ml)	393,50	23,64	152,7585	287	30,50	77,1658 p=0.003
Prolaktin (ng/ml)	85,66	2,57	21,8634	35,90	6,97	14,2650 p=0.92

FSH, LH, progesteron, prolaktin değerleri kontrol ve hasta grubu arasında istatistiki olarak farklı değildi. Estrodiol ise tekrarlayan düşük grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulundu. Bu da istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu.

5. TARTIŞMA

Gebelik kayıplarının etyolojisinde anatomik, hormonal, trombotik, otoimmün, genetik, enfeksiyöz, belirlenemeyen nedenler söz konusu olabilir. İmmünolojik faktörlerin ne kadar etkili olduğu sonucunu bulmak çok zordur. Son yıllardaki çalışmalar alloimmün faktörlerin implantasyon ve gebeliğin devamında NK hücrelerinin rol olabileceğini gösterdi. NK hücreleri, T hücre veya B hücrelerden olmayan, CD 16 ve CD 56 eksprese eden CD 3 eksprese etmeyen büyük granüler lenfositlerdir. Fonksiyonu virüs ile enfekte hücrelerin direkt yok edilmesi ve sitokin üreterek spesifik olmayan ve hızlı bir immün cevap oluşturmaktır. (161).

İmplantasyonda uterusu bol miktarda NK hücre bulunur ve bu hücreler plasenta trofoblastlarla yakın kontakt içindedir. Menstrual sikluslarda değişen uterus mukozasının büyüme, farklılaşma, dökülme ve rejenerasyonunu modüle eder. NK hücreler ismini onları tanımlamak için yapılan in vitro testlerden alırlar (162). NK hücrelerinin trofoblastları öldürdüğüne dair kanıt yoktur. Muhtemelen sitokin salgılayarak plasental invazyona yardım ettiği düşünülmektedir. (163).

NK hücrelerinin regülasyonu periferik kan ve endometrial reproduktif immünopatoloji ile beraberlik gösterir. Bu sistemdeki bozulmada tekrarlayan spontan düşük, implantasyon başarısızlığı, infertilite ve preeklampsi ile ilişkili bulunmuştur. Gene uterin mukozada dominant olan lökositler ve implantasyon sırasında önemli rolü bulunmaktadır. Bu yüzden NK hücrelerinin sayısal değerleri, hücre parametreleri ya da oranı, alt kümeleri, fonksiyonel aktiviteleri, sitotoksik özellikleri ya da salgıladıkları sitokin profili, reseptör yada gen ekspresyonu, desiduada, periferde ve endometriumda yoğun olarak incelenmiştir. (164).

Yaklaşık olarak periferik kan lökositlerinin %10'nunu NK hücreleri oluşturur. Periferik kan NK hücreleri CD56 ve CD16 ekspresyonuna göre iki gruba ayrılır.

NK hücrelerinin %90'ını CD56dim hücreleri oluşturur. Periferik kan NK hücrelerinin %90'ı düşük seviyede CD56 ve pozitif CD16 eksprese eder ve CD56^{mat}CD16⁺ olarak tanımlanır. Kalan %10'u yüksek seviyede CD56 eksprese eder ve CD16- negatiftir, CD56^{parlak}CD16- tanımlanır. Bu iki grup fonksiyon

bakımından farklıdır. CD56_{mat} hücreler daha sitotoksiktir ve KIR (killer immünoglobulin like reseptör) eksprese eder. %10'unu ise CD56_{parlak} CD16- hücreler oluşturur. CD56 bright hücreleri CD56_{mat} hücrelerine göre 25 kat daha fazla IL-10 üretmektedirler.

Reproduktif dönemde uterin mukozanın tanımlayıcı özelliği bol miktarda NK hücresi içermesidir. Diğer solid organlarda bu miktarda NK hücresi bulunmaz. Dalak, karaciğer, akciğer ve barsaklar az miktarda da olsa NK hücresi bulundurulur. Uterin NK prekürsörlerine dalak, lenf nodları, kemik iliği, timus ve karaciğerde rastlanmıştır (165). Endometriumdaki NK hücrelerinin çoğunu CD56_{parlak} ve CD16_{mat/neg} oluşturur. (166). Endometriumdaki NK hücrelerinin inflamatuvar veya düzenleyici rolleri bulunmaktadır. Bu hücrelerin desidual anjiojenik faktörlerin güçlü sekretuar modülatörü olması nedeniyle fetal gelişime katkıda olduğu öne sürülmüştür.(167) Trundley ve Moffet'in tanımladığına göre CD56_{parlak} subgrubu düşük sitotoksiktir, KIR eksprese etmezler ve yüksek seviyelerde CD94 / NKG2 eksprese ederler. Ayrıca yüksek afiniteli IL-2 reseptörü, yüksek miktarda IFN γ , TNF α , GM-CSF, IL-10 ve IL-13 eksprese eder (tez141). CD56 _{parlak} NK hücrelerinin ana sitokin üretici NK hücresi olduğu söylenir (168).

Koopman ve ark. uterin desidual NK hücreler ile periferik kan NK hücrelerinin gen ekspresyonunu microarray analizi ile kıyaslamışlardır. 10.000 genin analizinde 278 genin uterin NK hücrelerinde periferik kan NK hücrelerine göre 3 kattan daha fazla eksprese olduğu bulunmuş. Uterin NK hücrelerinde eksprese olan genler nedeniyle periferik kan NK hücrelerinden farklı olduğu düşünülmüştür. Bu farklılıklar uterin NK hücrelerinin gebeliğe özgü fonksiyonları olduğunu işaret eder. Uterusda çok miktarda NK hücresi bulunmasına neden olan stimulus tam olarak anlaşılmamıştır. 10.000 genin analizinde 278 genin uterin NK hücrelerinde periferik kan NK hücrelerine göre 3 kattan daha fazla eksprese olduğu bulunmuş. Uterin NK hücrelerinde eksprese olan genler nedeniyle periferik kan NK hücrelerinden farklı olduğu düşünülmüştür (169). Bu farklılıklar uterin NK hücrelerinin gebeliğe özgü fonksiyonları olduğunu işaret eder. Uterusda çok miktarda NK hücresi bulunmasına neden olan stimulus tam olarak anlaşılmamıştır.

Lobo ve ark. sekretuar endometriumda 8 immün regüle genin up regülasyonunu gösterdi (170). Bu genlerinin fonksiyonları uNK hücrelerinin

proliferasyonu, T hücrelerin inhibisyonu ve klasik kompleman yolunun inhibisyonudur. Bu genlerin implantasyon döneminde upregüle olması implantasyonda ve implante olan embryonun immün tolerasında rolü olabileceğini düşündürmüştür. (170).

Menstrüel siklus sırasında uterin NK hücrelerin sayısı değişir. Preovulatuvar fazda az sayıda bulunur, midluteal fazda yükselirken geç sekretuar fazda pik yapar. Gebelik oluşmazsa menstrasyondan yaklaşık 2 gün önce progesteron seviyeleri düşer ve NK hücreleri apoptotik hücre ölümüne benzeyen nükleer değişikliğe uğrar. Ancak gebelik olursa uNK hücreler endometriumda ve desiduada bulunmaya devam ederler. İmplantate olan trofoblastların infiltre ettiği desidua bazaliste yoğun NK hücre infiltrasyonu bulunur. Desiduada ki lökosit popülasyonunu % 70 'ni NK hücreler oluşturur. NK hücrelerinin desiduada bulunması erken gebeliğin bir bulgusudur ve 20. gebelik haftasından sonra belirgin değildir. Term desiduada ise bulunmaz (171).

Sulukvin ve ark. yaptığı çalışmada makrofajların, NK hücrelerin ve T hücrelerin gebe olmayan endometriumda ve rhesus maymunun erken gebelik dönem desiduasındaki dağılımı araştırılmış. (172). Makrofaj ve NK hücre sayısı implantasyonda ve erken gebelik dönemi desiduasında dramatik olarak artar. Makrofajlar implantasyon alanında çokken CD56+ lenfositler desiduya yayılmıştır. Az sayıda CD3+ T hücreleri endometrial stromaya dağılmıştır. Bu çalışma makrofajların ve NK hücrelerinin trofoblast invazyonuna cevapta değişik rolleri olabileceğini göstermiştir.

Emmer ve ark.'nın yaptığı çalışmada periferik kandaki CD56 + CD56+/16+, ve sitotoksik NK hücrelerini, tekrarlayan spontan abortusu olan ve gebelik öncesi normal kontrolü olanlarla karşılaştırmışlardır. Uzun süreli olan bu çalışmada kontrol ve hasta grupları arasında CD 56+ / 16+ NK hücreleri erken gebelikteki oranla daha yüksek sayıda bulunmuştur. Benzer olarak NK hücresi reaktivitesinde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer önemli bir sonuçta CD56+ / 16- hücrelerin, CD56+ lere göre, tekrarlayan abortus grubunda sporadik abort ya da infertil gruba göre yüksek olduğu bulunmuş. (173).

Son gebeliğinde karyotipi normal olan biyokimyasal gebelik veya spontan düşükle sonuçlanan kadınların, yapılan periferik kan incelemesinde NK düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir. (174).

Bir çalışmada 4-5. Gestasyonel haftalarda NK hücre aktivitesinin 6-7 ve 8-9. Gebelik haftasına gittikçe azaldığı gösterilmiştir. Bir sonraki gebeliğinde normal kromozomlu abortus yapan kadınlarda, anormal kromozomal yapıli abortus gerçekleşen kadınlara göre periferik NK hücre aktivitesinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. (175).

Shakar ve ark.'nın yaptığı çalışmada periferik kan NK hücre sayısı ve aktivitesi primer habituel abort olanlarda, sekonder habitüel abort (en az bir canlı doğumu) olanlarda ve kontrol infertil hastalarda ölçüldü. Habituel abort yapanlarda NK hücre sayısı ve aktivitesi en yüksek, sekonder habituel abort yapanlarda orta seviyelerde, kontrol hastalarında en düşük bulundu. Yazarlar bu çalışmadaki bulguların NK hücrelerinin habituel abortun etyolojisinde yer aldığı kanısına vardılar (176).

Bazı eski çalışmalar periferik kanda artmış NK hücre sayısının veya aktivitesinin gebelik kaybının belirteci olarak gösterilmiş.(177, 178). Gebelik sırasında %18' in üzerinde artış gebelik kaybı için olumsuz prognostik belirteç olarak kabul edilmişti (179). İnfertil veya düşük yapan kadında NK hücre sayısında %12' den fazla artış başkaları tarafından anormal yüksek olarak kabul edilip tedavi için endikasyon olarak görülmüştü. (180). Periferik kan NK hücresi ile uterin NK hücresi farklıdır. Uterin NK hücresi periferik kan NK hücresine göre daha az sitolitik aktiviteye sahiptir. Periferik kandaki CD56+ NK hücre yüzdesi cinsiyet, ırk, stres ve yaşdan etkilenir ve normal sağlıklı insanda %5 ile %29 arasında değişir (169). Elde bulunan kanıtlara göre periferik kan NK hücre yüzdesi ve aktivitesini ölçmenin kanıtlanmış klinik faydası olmadığı gösterilmiştir.

Habituel abort yapan kadınla fertil kontrollerinin endometrium NK hücre sayısının kıyasladığı birçok çalışma yapıldı (168, 177, 181, 182, 183). Bulgular tutarlı değildir. Bazı çalışmalar açıklanamayan tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda CD16- NK hücrelerinin düşüşünü göstermiş. Sekretuar fazda NK hücresinin

artmasının başarılı üreme fonksiyonu için gerekli olduğunu düşünülmüştür (184). Başka çalışmalar ise NK hücre sayısının arttığını göstermişlerdir (185). Shimada tekrarlayan gebelik kaybı olan grupla fertil kontrollerinde mid-luteal endometrium NK hücreleri, NK T hücre popülasyonu ve T-helper hücrelerin sitokin ekspresyonunu araştırmış ve NK hücre popülasyonu ve NK T hücre popülasyonunda fark bulamamıştır. Ancak T-helper hücre popülasyonu yüzdesi tekrarlayan düşük grubunda düşük bulundu (182). Çalışmalar NK hücrelerin bilinmeyen fonksiyonundan çok NK hücre sayısına yoğunlaştığı için tutarsız sonuçlarla karşılaşabiliyoruz.

Normal kromozom ve anormal kromozomal yapıya sahip abort eden kadınların desidualarının flowsitometrik olarak incelendiği bir çalışmada NK hücreleri, IL4, TNF-a, IFNgama düzeylerinde anlamlı bir fark bulamamışlardır (186).

Moffet ve ark. Uterin NK hücre sayısının ovulasyondan sonra hızlıca değiştiği ve mukozadaki dağılımının sabit olmadığını gösterdi. Bütün örnekler yüzey epitelinden aynı derinlikte olmalı. Bu zorluklar nedeniyle çoğu çalışmayı kıyaslamak oldukça zordur. Açıklanamayan düşük yapan kadınlarda kromozomal olarak normal fetuslarla kromozom anomalisi olan fetusların plasental dokuları araştırıldı (183, 187). Normal kromozomlu spontan abort grubunda CD56parlakCD16- NK hücre yüzdesi düşük bulundu. Bu bulgularla açıklanmayan tekrarlayan düşüklerde selüler bağışıklığın rolü olduğu düşünüldü. Bu çalışma ayrıca ileride yapılacak çalışmalarda karyotipleme yapılmasında önemine dikkat çekmiştir.

Michimata ve arkadaşları midluteal dönemde alınan endometriyal biyopsi ile lenfosit subgruplarını flowsitometrik olarak incelemişler. Arada istatistiksel olarak bir fark bulamamışlar. İmplantasyonda önce alınan örneklerin gebelik sonucunu değerlendirmede kullanılamayacağı yorumunu yapmışlardır. (193).

Quack ve ark. normal karyotipi olan erkek fetuslu RSA'lu hastaları, Tirizomi 16 'ya eşlik eden RSA'lu hastaları elektif terminasyon yapan hastalarla karşılaştırmışlardır. Midluteal dönemde alınan endometrial biyopsilerindeki parafin kesitlerde, lenfosit subtiplerine antikorlarla bakmışlar. RSA olan erkek fetuslu

hastalarda kontrol grubuna göre CD 56/45 oranının azalmış olduğu görülmüş.(190).

Quenby ve ark.'nın midluteal yaptığı biyopsi de immünohistokimyasal olarak, monoklonal antikorlarla lenfosit subtiplerine bakılmış. CD4, CD16, CD14 ve CD 56 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır (192). Tuckerman ve ark.'nın yaptığı çalışmada açıklanamayan infertilitesi olan 87 ve 10 kontrol grubu oluşturmuşlar. 51 hasta devam eden zamanda gebe kalmış. 19 hasta tekrar abort etmiş. 32 hasta sağlıklı bir bebek doğurmuş. Peri implantasyon döneminde incelenen uterin NK hücrelerinin sonraki gebeliğin sonucunu etkileyemeyeceği sonucuna varmışlardır.(188).

Tablo 4.7. Tekrarlayan düşüğü olan hastalarda lökosit subtipleri ile ilgili araştırma sonuçları.

Araştırma	Araştırılan grup	Mid luteal endometrial biyopsi
Clifford ve ark.	29 kadın RSA 10 sağlıklı kadın	Endometriumda CD56+ NK azalma
Quenby ve ark (192)	22 kadın RSA (>3) 9 fertil kadın	CD4+ , CD16+, CD14+ ve CD56+ lökositler sağlıklılardan daha yüksek bulunmuş
Michimata ve ark (89)	17 RSA (2>) 15 erkek faktör infertiliteli kontrol grubu	CD56+ hücrelerde fark yok
Tuckerman ve ark (188)	87 RSA'lı kadın 10 normal kontrol	Artmış endometrial CD56+ NK hücreleri Plasental Doku

Hill ve ark (191)	20 RSA 'lı kadın(>4)	CD56+ hücrelerde fark yok
	20 elektif terminasyon	
Vassiliadou ve Bulmer (190)	40 spontan abort	Normal gebeliğe göre %50 artmış CD 57+ NK hücresi
	19 elektif terminasyon	
Kwak ve ark.(189)	71 RSA'lı kadın(>3)	%29,6(p=0.03) CD 57+ NK hücrelerinin implantasyon alanında arttığı gösterilmiş.
	20 elektif terminasyon	
Quack ve ark. (190)	17 RSA 'lı erkek gebelik	CD56+ NK hücrelerinde fark yok. RSA'lı erkek gebeliğe göre elektif terminasyonda CD56/45 azalmış
	20 elektif terminasyon	
	21 açıklanmayan Tz 16'ya eşlik eden RSA	

908

American Journal of Reproductive Immunology 59 (2008) 388–400 a 2008 The Authors
Journal compilation a 2008 Blackwell Munksgaard

Bizim çalışmamızda 35 açıklanamayan habituel abortusu olan hastaların 12 kontrol grubu ile olan karşılaştırmasında alınan midluterl endometrial örnekler flowsitometrik olarak incelenmiştir. CD 45, CD14, CD45 + 14, s CD 3, *CD4, *CD8, CD 8 + 3, CD4 sayısı, CD 16+56, CD 3+ 16 + 56, CD5, CD 10, CD 19, CD 103, CD 22, CD 20, CD 57, cCD68, CD 8 sayıları habituel abortus ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. CD 4/ CD8 oranı ise habituel abortus grubunda daha düşük bulunmuştur. Bu da sitotoksik lenfositlerin, T hepler lenfositlere oranının arttığını göstermektedir. CD 16 sayısı hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. CD 4+3 sayısı da kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur habituel abortuslu hastalardan.

Açıklanmayan tekrarlayan gebeliği olan, sağlıklı gebe ve sağlıklı gebe olmayan kişiler arasında periferik kanda CD4 pozitif hücrelerinin düzeyine

bakılmış. Açıklanmayan tekrarlayan düşüğü olan hastalarda sağlıklı gebe olmayan gruba göre CD4+ CD25+ regülatuar T hücrelerin azaldığı görölmüş. Ancak normal gebliği olan ve gebe olmayan gruplar bir fark izlenmemiş. Bu durumun açıklanamayan habituel abortuslu grupta CD4+CD25+ düzeylerindeki dowregölasyonun RSA ile ilişkili olabileceğini göstermiştir. Bizim çalışmamız da endometrial örneklerde CD4+ hücrelerin RSA hasta grubunda artmış olduğunu gördük.

Sinsityotrofoblast ve villöz sitotrofoblastlar clas I ve clas II HLA ekprese etmezler (194) . Ancak HLA-C, HLA-E ya da HLA-G ‘nin ekstrasvillöz sitotrofoblastlar tarafından seçici olarak salgılandığı bildirilmiştir (195, 196)Ekstrasvillöz sitotrofoblastlar ve sinsityotrofoblastlar tarafından MHC antijeni salgılanmaması sitotoksik lenfositler tarafından tanınmamasına sebep olabilir. Bu hücreler intervillöz alanla ve doğrudan periferik NK hücreleri ile direkt temasdadır. HLA-G varlığının NK hücrelerinin lizisinden koruyabileceğı düşünölmektedir. Gebelikte koryokarsinom ile benzer HLA I direnç mekanizmasından bağımsız olarak ekstrasvillöz trofoblast ile desidual lenfositler arasındaki HLA-G bağımlı tolereans olabilir. (197).

6. Sonuç

Özet olarak bizim çalışmamızda CD 16 pozitif NK hücrelerinin arttığı, T helper ve T sitotoksik lenfositlerin birbirine olan oranının azaldığını gördük. RSA ile açıklanmayan infertilite, çoklu implantasyon başarısızlıkları TH1 ile ilişkilidir. Hormonal etki, egzersiz, menstrual gün ile NK hücrelerinin bağışıklık yanıtı, sayı ve aktivitesi değişebilir. Çalışma sonuçları, çalışma grubunun seçimine, laboratuvar tekniklerine ve örnek seçimine göre değişebilir. Ancak NK hücre aktivitesini ve immun cevabın oluşmasına yardım eden diğer hücrelerle ilişkisi araştırılmalıdır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalardan NK hücrelerin implantasyonda ve erken gebeliğin desiyudasında ana lenfosit tipi olduğu, uterin NK hücrelerinin periferik NK hücrelerinden farklı olduğu çıkarılmalıdır. NK hücre sayıları ve artışı, RSA ya da infertilite problemleri olan hastalarda klinik sorun oluşturur. Bu kadınların NK hücrelerinin immünofenotipik özellikleri değişiklik gösterir. NK hücre mekanizması, diğer üreme sisteminin immünopatolojisi, NK hücreleri arasındaki etkileşim, hormonal kontrol, reseptör ekspresyonu ve NK hücrelerinin genetik kontrolü gelecekte araştırılmaya aday konulardır. NK hücre alt tipleri, yeni hücre belirteçleri, hasta seçim kriterleri gelecekteki analiz tekniklerinden olmalıdır. NK hücre sayı ve aktivitesindeki değişikliklerin neden mi sonuç mu olduğu bilinmemektedir. RSA ve infertilite için immünmodülasyon umut verici bir tedavi yöntemidir. Bu konuda yapılacak randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

Erken ve sporadik gebelik kayıpları sık karşılaşılan jinekolojik problemlerdir. Gebelikte en sık karşılaşılan komplikasyon olduğu bilinmektedir. Gebelik kayıplarının büyük bir kısmı ilk trimester içinde olur ve bu oran bundan sonra hızla düşer. Günümüz şartlarında erken gebelik kaybına sebep olan nedenleri saptayabilmek her zaman mümkün olmamaktadır. Spontan gebelik kayıplarına neden olan maternal faktörler arasında ise uterin anomaliler, endokrin faktörler, enfeksiyonlar ve bağışıklıkla ilişkili faktörler sayılabilir. Tekrarlayan gebelik kayıplarının %20-50'sinin bağışıklıkla ilişkili nedenlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu durum dikkatleri bağışıklık sistemi üzerine çekmiştir.

Gebelik kayıplarının nedenlerini bulmak çoğu zaman zordur. Gebelik kaybında oluşan bağışıklık cevabı şimdiye kadar tam olarak açıklanamamıştır. Doğal öldürücü hücreleride dahil olmak üzere lenfosit subtiplerinin implantasyonda ve plasentasyonda önemli rol aldığı rapor edilmiştir. Üreme fizyolojisinde bu hücrelerin işlevlerini anlamak hala ilgi çekmektedir. Bu hücrelerin implantasyonda ve gebeliğin devamındaki işlevi merak konusudur.

Amaç: Tekrarlayan düşüğün nedenlerini araştırmak için lenfosit oranlarını ve subtiplerini midluteal endometriyumda akım sitometri kullanarak değerlendirdik.

Gereç ve Yöntemler: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğine başvuran iki ya da daha fazla ardışık düşüğü olan, karyotip, endokrinolojik testler ve histerosalpingografi hastalar çalışmaya dahil edildi. Normal gebelik grubunda kadınların ortalama yaşı 27.53 (21- 37) spontan düşük grubunda 28.74 (18- 41)' dı. Desidual lenfositler FITC (fluorescein isothiocyanate)-konjuge anti-CD16 MoAb, PE- (phycoerythrin) konjuge anti-CD56 antikor ve PerCP-konjuge anti-CD3 antikor ile işaretlendi. Antikor işaretli hücreler FACS Caliber akım sitometri ile analiz edildi. Üç renkli akım sitometride 488nm de 15mW argon lazer kullanıldı. İstatiksel analizler ki-kare test ve Mann Whitney U test kullanılarak yapıldı. $p < 0.05$ anlamlı fark olarak kabul edildi. Veriler SPSS13.0 Windows ile analiz edildi.

Bulgular: Tekrarlayan düşük grubundaki 35 kadının ortalama yaşı 31.22 (18- 41) iken kontrol grubundaki 12 kadının ortalama yaşı 29.33 (21-37)'dir. En az iki

normal doğumu olanlar kontrol grubuna dahil edili. Tekrarlayan düşük grubunda ortalama gebelik sayısı 3.65, doğum 0.34, düşük sayısı 3.2, yaşayan 0.28 iken kontrol grubunda gebelik 2.58, doğum 2.08, küretaj 1.05, yaşayan 1.08 idi. Hastaların gebelik haftasına göre abort etme haftaları 2-20 hafta arasında değişmekteydi. Düşük yapılan ortalama gebelik haftası 7.17 idi.

CD 45, CD14, CD45 + 14, s CD 3, *CD4, *CD8, CD 8 + 3, CD sayısı, CD 16+56, CD 3+ 16 + 56, CD5, CD 10, CD 19, CD 103, CD 22, CD 20, CD 57, cCD68, CD 8 tekrarlayan düşük ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi. CD 4 +3, CD4 sayısı, CD4 / CD8 sayılarının oranları, CD 16 sayıları tekrarlayan düşük ve kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklı idi. CD 4+3 kontrol grubunda tekrarlayan düşük grubundan daha yüksek olarak tespit edildi. CD 4 sayısı hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olarak tespit edildi. CD 4 / 8 oranı habituel abortus grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulundu. CD 16 hücreleri tekrarlayan düşük grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu. HLA G düzeyinde kontrol ve hasta grupları arasında anlamlı olarak farklı izlenmedi. FSH, LH, progesteron, prolaktin değerleri kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak farklı değildi. Estrodiol ise tekrarlayan düşük grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu.

Sonuç: Bizim çalışmamızda CD 16 pozitif NK hücrelerinin arttığı, T helper ve T sitotoksik lenfositlerin birbirine olan oranının azaldığını gördük. Bu azalma T sitotoksik hücrelerin etkinliğinin göreceli olarak fazla olması ile sonuçlanmaktadır. Tekrarlayan gebelik kayıplarının nedenleri arasında bağışıklık sisteminin rolünün açıklığa kavuşması ile immünmodülasyon umut verici bir tedavi yöntemi olacaktır.

8. SUMMARY

Early and sporadic pregnancy loss are common gynecological problems. This is known that, it is the most common complication of pregnancy. Most of pregnancy loss occurs in the first trimester and this proportion fall rapidly thereafter. In today's terms, the cause of early pregnancy loss is not always possible to detect. Maternal factors that may cause spontaneous pregnancy loss are the uterine abnormalities, endocrine factors, immunological factors and infections. 20-50% of recurrent pregnancy loss is thought to be due to immunological causes. This situation has attracted attention on the immune system.

Causes of pregnancy loss is often difficult to find. Immune response that occurs in pregnancy losses so far not been fully explained. Natural killer cells and lymphocyte subtypes have a role in implantation and placentation have been reported. In reproductive physiology, to understand the function of these cells is still interesting. The function of these cells is still wondering about implantation and pregnancy continuation.

Objective: To investigate the causes of recurrent miscarriages, lymphocyte ratio and subtypes in midluteal endometrium were evaluated using flow cytometry.

Materials and Methods: patients who were admitted to Kocaeli University Medical Faculty Hospital Obstetrics and Gynecology Department for 2 or more abortus clinically were included in the study. The average age of women in normal pregnancy group was 27.53 (21- 37) and spontaneous abortion group was 28.74 (18- 41). Antibodies marking: Decidual lymphocytes, FITC (fluorescein isothiocyanate)-conjugated anti-CD16 Moab, PE-(phycoerythrin) conjugated anti-CD56 antibody and PerCP-conjugated anti-CD3 antibody has been marked with. Flow cytometry: Antibody labeled cells were analyzed by FACS Caliber flow cytometer. Three-color flow cytometry at 488nm 15mW argon laser was used. Statistical analysis using the Student t test and Mann Whitney U tests were performed. $p < 0.05$ was considered significant difference. The data were analyzed with SPSS13.0 Windows.

Results: The average age of the 35 women with recurrent abortion group was 31.22 (18-41) and the average age of 12 women in the control group was 29.33 (21-37).

In the group with recurrent miscarriages; average number of pregnancies was 3.65, birth 0.34, abortus 3.2 and live 0.28. In the control group; average number of pregnancies was 2.58, birth 2.08, curettage 1.05 and live 1.08. Gestational abortion of patients were ranged from 2-20 weeks. The mean gestational abortion was 7.17. $p < 0.05$ was considered significant difference. In habitual abortus and control group CD 45, CD14, CD45 + 14, s CD 3, * CD4 * CD8 +, CD 8 + 3, the number of CDs, CD 16 +56, 3 + 16 + 56 CD, CD5, CD 10, CD 19, CD 103, CD 22, CD 20, CD 57, cCD68, and CD 8 counts were similar. CD 4 +3, CD4 count, CD4 / CD8 ratio and CD 16 count were significantly different between habitual abortion and control group. CD4+3 was found high in control group compared to habitual abortus group. Number of CD4 in the patient group was found to be lower than in the control group. CD 4 / 8 ratio in the habitual abortion group were significantly lower than the control group. CD 16 cells in the habitual abortion group were significantly higher than the control group. HLA-G levels in the habitual abortion group and control group had no difference. FSH, LH, progesterone, and prolactin values between control and patient groups was not statistically different. Estrodiol in the group with recurrent miscarriages, was found to be higher than the control group. This was found to be statistically significant.

Conclusion: In our study, we found CD 16 positive NK cells increased, the T helper and cytotoxic T lymphocyte ratio decreased with each other. RSA with unexplained infertility, multiple implantation failures are associated with TH1. NK cell immune response, number and activity may change with hormonal effects, exercise, menstrual days. Of the studies so far; NK cells in implantation and early pregnancy decidua are the main cell type, uterine NK cells is different from peripheral NK cells. In patients with RSA or infertility problems, increase number NK cells create a clinical problem. NK cell subtypes, new cell markers, patient selection criteria should be for future analysis techniques. Changes in the number and activity of NK cells were not known to causes or consequences. Immunomodulation for RSA and infertility, is a promising treatment modality. Randomized controlled studies on this subject are needed to be done.

9.KAYNAKLAR

1. Jonathon S. Berek. *Novak jinekoloji*. 2004; **13**:1067-1094/ 507-509.
2. Miller JF, Williamson E, Glue J. *Fetal loss after implantation: A prospective study*. *Lancet*, 1980; **2**:554–559
3. M. Nedim Çiçek, Cemalettin Akyürek, Çetin Çelik, Ali Haberal. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi* **2006**;2:1593-1610.
4. Holly B. Ford, Danny J. Schust. *Recurrent loss: Etiology, Dignosis and therapy* . *Obstet.& Gynecol.*20092;**2**:76-83.
5. Stiriati GM. *Recurrent miscarriage I: definition and epidemiology*. *Lancet* 1990; **336**; 673- 675.
6. David K. James, Philip J. Ster, Carl P. Weiner, Bernard Gonik. *Yüksek riskli gebelikler , yönetim seçenekleri*.2008;**3**:105-124.
7. Coulam CB. *Epidemiology of recurrent sbontaneous abortion*. *Am J. Reprod Immunol* 1991;**26**:23-27.
8. F. Gary Cunningham, Norman F. Gant, Kenneth J. Leveno, Larry C. Gilstrap, John C. Hauth, Katharine D. Wenstrom. *Williams Doğum Bilgisi* **2005**;21: 855-877.
9. Pikee Saxena, M.M. Mıro. *Possible role of male factor in recurrent pregnancy loss*. *İndian J Physiol Pharmacol* **2008**;52(3) : 274-282.
10. Tongsong T, Wanapirak C, Srisomboon J, et al, *trassvaginal ultrasound in threatened abortions, with empty gestational sacs*. *Int. J Gynaecol Obstet* 1994; **46** : 297-301.
11. Boue J,Boue A,Lazar P:*Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous abortions*. *Teratology* 1995;**12**:11-16.
12. Wilcox A.J. Weinberg CR, O'Connor JF, et al *Incidence of early loss of pregnancy*. *N Engl J Med* 1988;**319** :189-194).
13. Alberman E. The epidemiology of repeated abortion. In: Beard RW.Sharp F, eds *Early pregnancy loss : mechanism and treatment* . New York :Springer Verlag .**1988**:9-17.

14. Cunningham FG, MacDonald PC, Grant NF.(eds) *Williams Obstetrics*, ed 20 (Section 26, Abortion).Stamford, Appleton & Lange, **1997**, pp 579-605.
15. Warburton, D. And Fraser, F.S, *Spontaneous abortion risks in man: data from reproductive histories collected in a medical genetics unit. Am J Hum Genet*, 1964. **16**:p.1.
16. Edmonda DK, Lindsays KS, Miller JF. *Early embriyonic mortality in women Fertil Steril* **1982**;38:447-451.
17. Romen. E. *Fetal loss rates and their relation to pregnancy order. JEpidemiol Comunity Health*, 1984. **38**(1):p.29-35.
18. Poland, B Miller, J.R.,Jones, D,C And Trimble , B.K., *Reproductive counseling in patients who have had a spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol*, 1977.**127**(7):p685-91.
19. Carr.D. D.*Cytogenetic aspect of induced and spontaneous abortions.Clin Obstet Gynecol*, 1972.**15**:p203-219.
20. Simpson JL. In: *CREOG Basic Sciense Monographs in Obstetrics and Gynecology*.
21. Jacobs, P.A. , Szulman , A.E. and Funkhouser , J, *Human triploidy: relationship between parental origin of the additional haploid complement and development of partial hydatidiform mole. Ann Hum Genet*, 1982. **46**: p.223-31.
22. Watt, J.L. , Templeton, A.A. and Mesinis, I., *Trisomy 1 in an eight cell human pre-embryo. J. Med Genet*, 1987.**24**(1) :p.60-4).
23. Byrne, J.L. and Ward , K.,*Genetic factors in reccurent abortion. Clin obstet Gynecol*, 1994. **37**(3):p693-704.
24. De Braekeleer, M. And Dao , T.N, *Cytogenetic studies in couples experiencing repeated pregnancy losses. Hum Reprod*, 1990. **5**(5): p.519-528).
25. Simpson J.L., Meyers C.M. and Martin , A.O., *Translocations are infrequent among couples having repeated spontaneous abortions but no other abnormal pregnancies. Fertil Steril*, 1989.**51**(5):p811-4.
26. Byrne, J.L. and Ward , K.,*Genetic factors in reccurent abortion. Clin obstet Gynecol*, 1994. **37**(3):p693-704).
27. Lanasa MC, Hogge WA, Kubik CJ, et al.: *A novel X chromosome-linked genetic cause of recurrent spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol* 2001, **185**:563–568.

28. Lanasa MC , Hogge WA. *X chromosome defect as an etiology of reccurrent spontaneous abortion. Semin Reprod Med* 2000; **18**: 97-103.
29. Warburton, D.,*Reprouctive loss:how much is preventable? N Egl J Med*, 1987. 416(3):p1588-60.
30. Drugan , A., Greb, A. and Johnson , M.P., *Determinants of parental decisions to abort for chromosome abnormalites. Prenat Diagn*,1990. 10(8):p.483-90.
31. Lanier LL. *Activating and inhibitory NK cell receptors. Ann Rev Immünol* 1998; 452:**12** 13-18.
32. Billington, W., *The normal fetomaternal immun relationship. Baillere'se Clin Obstet Gyneacol*, 1992 . **6**:p.417-418.
33. Roberts, J and Taylor, C.,. *Expression of the CD46 antijen and the absence of clas 1 antigen on the human oocyte and preimplantation blastocyst, Immunology*, 1992 .**75**: p.202-205).
34. Kovats , S and Main , E., *A Clas 1 antigen HLA-G expressed in human trophoblast . Science*, 1990.**248**:p.220-223.
35. McIntyr, J. And Faulk , W., *Human trophoblast lymphocyte cross reactive (TLX) antigens define a new alloantigen system. Science , 1983.222*:p.1135-1137).
36. Beer, A., *New horizons in the diagnosis, evulation and therapy of reccurrent spontaneous abortion. Clin obstet Gnecol*, 1986.**13**:p.115-124).
37. Christiansen, O. And Mathieson, O., *Idiopathic recurrent spontaneous abortion. Acta Obstet Gynecol Scand*, 1990.**69**:p.597-601).
38. Fraser, E. And Grimes, D., *Immunization as therapy for reccurrent spontaneous abortion: A Review and meta-analysis Obstet Gyecol*, 1993.**82**:p.854-859).
39. HWANG, j and Ho, H., *The role of blocking factors and anti paternal lymphocytotoxic antibodies in the success of pregnancy in patients with reccurrent spontaneos abortion. Fertil Steril*, 1992. **58**:p.691-696).
40. Robertson MJ, Ritz *Biology and clinical relevance of human natural killer cells. J 1990 Blood* **76**:2421–2438.
41. Nagler A, Lanier LL, Cwirla S, Phillips JH 1989 *Comparative studies of human FcRIII-positive and negative natural killer cells. J Immunol* **143**:3183–3191.
42. Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA 2001 *The biology of human natural killer cell subsets. Trends Immunol* **22**:633–640.

43. Lanier LL 2001 *On guard—activating NK cell receptors*. *Nat Immunol* **2**:23–27.
44. Biassoni R, Cantoni C, Marras D, Giron-Michel J, Falco M, Moretta L, Dimasi
Human natural killer cell receptors: insights into their molecular function and structure. *J Cell Mol Med N* 2003 **7**:376–387.
45. King A, Allan DS, Bowen M, Powis SJ, Joseph S, Verma S, Hiby SE, McMichael AJ, Loke YW, Braud VM 2000 *HLA-E is expressed on trophoblast and interacts with CD94/NKG2 receptors on decidual NK cells*. *Eur J Immunol* **30**:1623–1631.
46. Northern AL, Rutter SM, Peterson CM *Cyclic changes in the concentrations of peripheral blood immune cells during the normal menstrual cycle*. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994 **207**:81–88.
47. Yovel G, Shakhar K, Ben-Eliyahu *The effects of sex, menstrual cycle, and oral contraceptives on the number and activity of natural killer cells*. *Gynecol Oncol S* 2001 **81**:254–262.
48. Souza SS, Castro FA, Mendonca HC, Palma PV, Morais FR, Ferriani RA, Voltarelli *Influence of menstrual cycle on NK activity*. *J Reprod Immunol* 2001 **50**:151–159.
49. Beer AE, Kwak JY, Ruiz *Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles*. *Am J Reprod Immunol* 1996 **35**:376–382.
50. Gregory CD, Lee H, Rees GB, Scott IV, Shah LP, Golding PR 1985. *Natural killer cells in normal pregnancy: analysis using monoclonal antibodies and single-cell cytotoxicity assays*. *Clin Exp Immunol* **62**:121–127.
51. Gregory CD, Lee H, Scott IV, Golding PR 1987 *Phenotypic heterogeneity and recycling capacity of natural killer cells in normal human pregnancy*. *J Reprod Immunol* **11**:135–145.
52. Ponte M, Cantoni C, Biassoni R, Tradori-Cappai A, Bentivoglio G, Vitale C, Bertone S, Moretta A, Moretta L, Mingari MC 1999 *Inhibitory receptors sensing HLA G1 molecules in pregnancy: decidua-associated natural killer cells express LIR-1 and CD94/NKG2A and acquire p49, an HLA-G1-specific receptor*. *Proc Natl Acad Sci USA* **96**:5674–5679.

53. Curran EM, Berghaus LJ, Verneti NJ, Saporita AJ, Lubahn DB, Estes *Natural killer cells express estrogen receptor and estrogen receptor and can respond to estrogen via a non-estrogen receptor mediated pathway. Cell Immunol* DM 2001 **214**:12–20.
54. Ehring GR, Kerschbaum HH, Eder C, Neben AL, Fanger CM, Khoury RM, Negulescu PA, Cahalan MD *A nongenomic mechanism for progesterone mediated immunosuppression: inhibition of K⁺ channels, Ca²⁺ signaling, and gene expression in T lymphocytes. J Exp Med* 1998 **188**:1593–1602.
55. Henderson TA, Saunders PT, Moffett-King A, Groome NP, Critchley HO *Steroid receptor expression in uterine natural killer cells. J Clin Endocrinol Metab* 2003 **88**:440–449.
56. Murphy KM, Reiner SL *The lineage decisions of helper T cells. Nat Rev* 2002 *Immunol* **2**:933–944.
57. Abbas AK, Murphy KM, Sher A *Functional diversity of helper T lymphocytes. 1996 Nature* **383**:787–793.
58. O'Garra A *Cytokines induce the development of functionally heterogeneous T helper cell subsets. Immunity* 1998 **8**: 275–283.
59. Miyaura H, Iwata M *Direct and indirect inhibition of Th1 development by progesterone and glucocorticoids. J Immunol* 2002 **168**: 1087–1094.
60. Paganin C, Matteucci C, Cenzuales S, Mantovani A, Allavena P *IL-4 inhibits binding and cytotoxicity of NK cells to vascular endothelium. Cytokine* **6**:135–140.
61. Seo N, Tokura Y, Furukawa F, Takigawa *Down-regulation of tumoricidal NK and NK T cell activities by MHC Kb molecules expressed on Th2-type T and T cells coinfiltrating in early B16 melanoma lesions. J Immunol* M1998 **161**:4138–4145.
62. Deniz G, Akdis M, Aktas E, Blaser K, AkdisCA *Human NK1 and NK2 subsets determined by purification of IFN gamma secreting and IFN gamma nonsecreting NK cells. Eur J Immunol* 2002 **32**:879–884.
63. Loza MJ, Peters SP, Zangrilli JG, Perussia B *Distinction between IL-13⁺ and IFN gamma natural killer cells and regulation of their pool size by IL-4. Eur J* 2002 *Immunol* **32**:413–423.

64. Bulmer JN, Morrison L, Longfellow M, Ritson A, Pace D *Granulated lymphocytes in human endometrium: histochemical and immunohistochemical studies.* *Hum Reprod* 1991 **6**:791–798.
65. Saito S Cytokine network at the feto-maternal interface. *J Reprod Immunol* 2000 **47**:87–103.
66. King A, Balendran N, Wooding P, Carter NP, Loke YW *CD3-leukocytes present in the human uterus during early placentation: phenotypic and morphologic characterization of the CD56++ population.* *Dev Immunol* 1991 **1**:169–190.
67. King A, Loke YW *On the nature and function of human uterine granular lymphocytes.* *Immunol Today* 1991 **12**:432–435.
68. Koopman LA, Kopcow HD, Rybalov B, Boyson JE, Orange JS, Schatz F, Masch R, Lockwood CJ, Schachter AD, Park PJ, Strominger JL 2003 *Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential.* *J Exp Med* **198**:1201–1212.
69. Kodama T, Hara T, Okamoto E, Kusunoki Y, Ohama K 1998 *Characteristic changes of large granular lymphocytes that strongly express CD56 in endometrium during the menstrual cycle and early pregnancy.* *Hum Reprod* **13**:1036–1043.
70. Stewart JA, Bulmer JN, Murdoch AP 1998 Endometrial leucocytes: expression of steroid hormone receptors. *J Clin Pathol* **51**:121–126.
71. King A, Gardner L, Loke YW 1996 Evaluation of oestrogen and progesterone receptor expression in uterine mucosal lymphocytes. *Hum Reprod* **11**:1079–1082.
72. Borzychowski AM, Chantakru S, Minhas K, Paffaro VA, Yamada AT, He H, Korach KS, Croy BA 2003 Functional analysis of murine uterine natural killer cells genetically devoid of oestrogen receptors. *Placenta* **24**:403–411.
73. Choe YS, Shim C, Choi D, Lee CS, Lee KK, Kim K 1997 Expression of galectin-1 mRNA in the mouse uterus is under the control of ovarian steroids during blastocyst implantation. *Mol Reprod Dev* **48**:261–266.
74. Lim KJ, Odukoya OA, Ajjan RA, Li TC, Weetman AP, Cooke ID. *Profile of cytokine mRNA expression in peri-implantation human endometrium.* *Mol Hum Reprod* 1998 **4**:77–81.
75. Kitaya K, Nakayama T, Okubo T, Kuroboshi H, Fushiki S, Honjo H *Expression of macrophage inflammatory protein-1 in human endometrium: its role in*

- endometrial recruitment of natural killer cells. J Clin Endocrinol Metab* 2003 **88**:1809–1814.
76. Ancelin M, Buteau-Lozano H, Meduri G, Osborne-Pellegrin M, Sordello S, Plouet J, Perrot-Applanat M *A dynamic shift of VEGF isoforms with a transient and selective progesterone-induced expression of VEGF189 regulates angiogenesis and vascular permeability in human uterus. Proc Natl Acad Sci USA* 2002 **99**:6023–6028.
 77. Popovici RM, Kao LC, Giudice LC *Discovery of new inducible genes in in vitro decidualized human endometrial stromal cells using microarray technology. Endocrinology* 2000 **141**:3510–3513.
 78. Chantakru S, Wang WC, van den Heuvel M, Bashar S, Simpson A, Chen Q, Croy BA, Evans SS *Coordinate regulation of lymphocyte-endothelial interactions by pregnancy-associated hormones. J Immunol* 2003 **171**:4011–4019.
 79. Wu WX, Brooks J, Glasier AF, McNeilly AS *The relationship between decidualization and prolactin mRNA and production at different stages of human . J Mol Endocrinol* 1995 **14**:255–261.
 80. Jones RL, Critchley HO, Brooks J, Jabbour HN, McNeilly AS *Localization and temporal expression of prolactin receptor in human endometrium. J Clin Endocrinol Metab* 1998 **83**:258–262.
 81. Gubbay O, Critchley HO, Bowen JM, King A, Jabbour HN *Prolactin induces ERK phosphorylation in epithelial and CD56(+) natural killer cells of the human endometrium. J Clin Endocrinol Metab* 2002 **87**:2329–2335.
 82. Jabbour HN, Critchley HO, Yu-Lee LY, Boddy SC *Localization of interferon regulatory factor-1 (IRF-1) in nonpregnant human endometrium: expression of IRF-1 is up-regulated by prolactin during the secretory phase of the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab* 1999 **84**:4260–4265.
 83. Ferry BL, Starkey PM, Sargent IL, Watt GM, Jackson M, Redman CW *Cell populations in the human early pregnancy decidua: natural killer activity and response to interleukin-2 of CD56-positive large granular lymphocytes. Immunology* 1990 **70**:446–452.

84. King A, Birkby C, Loke YW *Early human decidual cells exhibit NK activity against the K562 cell line but not against first trimester trophoblast. Cell Immunol 1989 118:337–344.*
85. King A, Loke YW *Human trophoblast and JEG choriocarcinoma cells are sensitive to lysis by IL-2-stimulated decidual NK cells. Cell Immunol 1990 129:435–448.*
86. Jokhi PP, King A, Sharkey AM, Smith SK, Loke YW *Screening for cytokine messenger ribonucleic acids in purified human decidual lymphocyte populations by the reverse-transcriptase polymerase chain reaction. J Immunol 1994 153:4427–4435.*
87. Saito S, Nishikawa K, Morii T, Enomoto M, Narita N, Motoyoshi K, Ichijo M *Cytokine production by CD16-CD56bright natural killer cells in the human early pregnancy decidua. Int Immunol 1993 5:559–563.*
88. King A *Uterine leukocytes and decidualization. Hum Reprod Update 2000 6:28–36.*
89. Trundley A, Moffett A *Human uterine leukocytes and pregnancy. Tissue Antigens 2004 63:1–12.*
90. Beaumont, J.L., *Syndrome hemorrhagique acquis du a iun anticoaulant circulant. Sangre, 1954:25:p1-5.*
91. Garenstein, M., Pollach, V.E. and Kark, R.M., *Systemic lupus erythematosus and pregnancy. N. Engl J.Med, 1962 267:p165-9.*
92. Alarcon-Segovia, D. Perez –Vazquez, M.E. and Villa, A.R., *Preliminary classification criteria for the antiphospholipid syndrome within SLE.Semin Arthritis Rheum, 1992. 21(5):p.275-86.*
93. Branch, D.W., Silver R.M. and Blackwell, J.L. *Outcome of treated pregnancies in women with antiphospholipid syndrome: an update of the Utah experience . Obstet Gynecol, 1992. 80(4):p614-20.*
94. Magid M.S., Kaplan, C and Sammaritano , L.R., *Placental pathology in SLE: a prospective study.Am J Obstet Gynecol, 1998.179(1):p.226-34.*
95. Kutteh, W.H. and Ermel, L.D. , *A clinical trial for the treatment of antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss with lower dose heparin and aspirin. Am J Reprod Immunol, 1996. 35(4):p.402-7).*

96. Rai, R.,Cohen, H., Dave , M. Regan, L., *Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with reccurent miscarriage associated with phospolipid antibodies (or antipospolipid antibodies).* BMJ, 1997. **314**(7076):p.253-7.
97. Fishman, P., Falach- Vaknine , E. And Zigelman , R., *Prevention of fetal loss in experimental antiphospolipid syndrome by in vivo administration of recombinant interleukin-3* J Clin Invest.
98. Cowchock, F.S., Reece, E.A. and Balaban , D., *Repeated fetal losses associated with antiphospholipid antibodies: a collaborative randomized trial comparing prednisone with lowe-dose heparin treatment.* Am J Obstet Gynecol, 1992. **166**(5):p. 1318-23.
99. Nelson-Piercy, C., *Heparin-induced in pregnancy .* Lupus ,1997.**6**(6):p.500-4).
100. Scott, J.R. and Branch, D.W., *Potential alloimmune factors and immünotherapy in recurrent miscarriage.* Clin Obstet Gynecol, 1994.**37**(3):p.761-7.
101. Silver, R.M and Branch, D.W. *Recurrent miscarriage:autoimmüne considerations.* Clin Obstet Gynecol,1994 **37**(3):p.745-60.
102. Cowchock,S., Dehoratius, R.D., Wapner, R.J. and Jackson, L.G., *Subclinical utoimmüne disease and unexplained abortion.* Am J Obstet Gynecol, 1984.**150**(4):p.367-71.
103. Stagnaro-Green, A., Roman, S.H. and Cobin, R.H., *Detection of at-risk pregnancy by means of highly sensitive assays for thyroid autoantibodies.* JAMA, 1990.**264**(11):p.1422-5.
104. Glass, R. And Golbus, M., *Recurrent abortion, in maternaFrtal medicine, Principles and Practice., W.B. Saunders Company. Philadelphia. 1994 p.445-451.*
105. McWilliams , R. And Gibbons, W., *Mullerian anomalies and recurrent pregnancy loss .* Infertil Reprod Med Clin North Am, 1991.**2**:p55-74 .
106. Buttram, V.C.J., *Mullerian anomalies and their management.* Fertil Steril, 1983.**40**(2): p.159-63.
107. Reuter, K.L., Daly, D.C. and Cohen, S.M., *Septate versus bicornuate uteri: errors in imaging diagnosis .* Radiology, 1989.**172** (3) :p.749-52.
108. Shapiro, B.S., *Instrumentation in hystereskopy.* Obstet Gynecol clin North Am, 1988.**15**(1):P.13-21.

109. Patton, P.E., Anatomic uterine defects. *Clin obstet Gynecol*, 1994 **37**(3):p.705-21.
110. Fedele, L., Zamberletti, D. And Vercellini , P., *Reproductive ve performance of women with unicornuate uterus. Fertil Steril*, 1986.**47**(3):p.416-9.
111. Corson, S., *Operative Hystereskopi for infertility. Clin obstet Gynecol*,1992 **35**:p.229-241.
112. Bennet, m., *Congenital abnormalites of the fundus, in Spontaneous and reccurent Abortion., Blackell Scientific :London 1987 .p.109-129.*
113. Brent, R.L. and Beckman, D.A., *The contribtion of envirionmental teratogens to embriyonic and fetal loss. Clin Obstet Gynecol*, 1994. **37**(3):p.646-70).
114. Kaufman, R.H., Adam , E., Binder , G.L. and Gerthoffer , E., *Upper genital tract changes and pregnancy outcome in offspring exposed inutero to diethylstilbestrol . Am J Obstet Gynecol*, 1980.**137**(3) :p.299-308).
115. Werler, M.M., *Teratogen update: smoking and reproductive outcomes. Teratology*, 1997.**55**(6) p.382-8.
116. Coulom, C.B and Stern, J.J., *Endocrine factors associated with reccurent spontaneous abortion. Clin Obstet Gynecol*, 1994.**37**(3):p.730-744.
117. Miadovnik, M.,Skillman, C. *And spontaneous abortion among insülin – depented diabetic women: Am J Obstet Gynecol*, 1985.**153**(4): p.439-42.
118. Tulppala, M., Bjorses, U.M. and Stenman, U.H., *Luteal phase defect in habituel abortion: progesteron in saliva. Fertil steril*, 1991.**56**(1):p.41-4.
119. Jacobs, H. And Hombourg, R., *The endocrinology of conception. Bailliere's Clin Endocrinol Metab*, 1990. **4**: p.195-205..
120. Regan, L. And Owen, E., *Hypersecretion of luteinising hormone , infertility and miscarriage. Lancet*, 1990.**336**:p.1141-1144.
121. Salim Daya. *Evidence-based management of recurrent miscarriage: optimal diagnostic protocol International Congress Series (2004)* **1266** 318-327.
122. Eroglu, G., Betz, G. And Torregano, C., *Impact of histocompatibility antigens on pregnancy outcome. Am J Obstet Gynecol*, 1992. **166**(5):p.1364-9.
123. Vince GS, Johnson PM: *Reproductive immunology, conception, contraception and consequences. The immiinology* 1996. **4**:112- 178.

124. Faulk WP, Temple A: *Distribution of beta-2 microglobulin and HLA in chorionic villi of human placentae. Nature* 1976 **262**:199,.
125. Lala PK, Keams M, Colavincenzo V: *Cells of the fetomaternal interface:their role in the maintenance of viviparous pregnancy. Am J Anat* 1984 **170**:501,.
126. Sunderland CA, Redman CWG, Stirrat GM: *HLA-A,B,C. antigens are expressed on nonvillous trophoblasts of the early human placenta, J Immunol* 1981 **127**:2614-2615.
127. Ellis SA, Sargent L, Redman CWG, McMichael AJ: *Evidence for a novel HLA antigen found on human extravillous trophoblast and a choriocarcinoma cell line. Immunology* 1986 **59**:595,.
128. Kovats S, Main EK, Librach C, et al: *A class I antigen, HLA-G. expressed in human trophoblasts. Science* 1990 **1**:220,.
129. Carosella ED, Dausset J, Kirszenbaum M: *HLA-G revisited. Immunology Today* 1996 **17**:404,
130. King A, Löke YW, Chaouat G: *NK cells and reproduction. Immunology Today* 1997 **18**:68.
131. Chung, D. And Ichinose , A., *Hereditary disorders related to fibrinogen and factors XIII., in The Metabolic Basis of Inherited Disorders, B.A. Scriver CR, Sly WL , Valle DL., Editor , Mc Graw-Hill New York , NY. 1989 p.2135-53.*
132. Ralph, L, Nachman , M. And silverstein , R., *Hypercoagulable states. Ann Intern Med, 1993.119:p.819-827.*
133. Hoppenstedt, D.A., Jeske, W., Fareed, J. And Bermes, E.W., *The role of tissue factor pathway inhibitor in the mediation of the antithrombotic actions of Heparin and low-molecular-weight-heparin. Blood Coagulation and fibrinolysis, 1995.6(1):p.57-64.*
134. Oosting, J.D., Derksen , H.W.M. and Bobbink, W.G., *Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with protrombin , protein C, or protein S ,; An explanation for their pathogenic mechanism. Blood* 1993**(10)**: P.2618-2625.
135. Kalafitis, M. And Mann, K., *Factor V leiden and thrombophiliaArteriosclerosis.*

136. Faioni, E.M., Razzari, C., Martinelli, I. And Mannucci, P.M., *Resistance to activated protein c in unselected patients with arterial and venous thrombosis. American journal of hematology*, 1997;**55**:p.59-64.
137. Clark, P., Walker, I.D. and Greer , I., *Acquired activated protein-C resistance in pregnancy and association with increased thrombin generation and fetal weight. Lancet*, 1999;**353(9149)**:p.292-3.
138. Bremme, K., Östlund, E. And Almqvist, I., *Enhanced thrombin generation and fibrinolytic activity in normal pregnancy and puerperium. Obstetrics & Gynecology*, 1992;**80**:p.132-137 86.
139. Bates, S.M. and Ginsberg, J.S., *Thrombosis in pregnancy. Curr Opin hematology*, 1997. 5: p.335-53.
140. Ogunyemi, D., Ku, W. And Arkel, Y., *The Association between inherited thrombophilia, antiphospholipid antibodies and lipoprotein A levels with obstetrical complications in pregnancy . J. Thromb Thrombolysis*.
141. Preston, F.E., Rosendaal, F.R., Walker, I.D., Briet, E., Berntorp, E., et al., *Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. Lancet*, 1996;**5(348)** :p.913-6.
142. Miller JF, Williamson E, Glue J, et al. *Fetal loss after implantation :a prospective study. Lancet* 1980;**2**:554-556.
143. Coulam CB, Wagenknecht D, Mclyntyre JA, et al. *Occurrence of other reproductive failures among women with recurrent spontaneous abortion. Am J Reprod Immunol*.1991;**25**:96-98.
144. Li TC, Spring PG, Bygrave C, et al. *The value biochemical and ultrasound measurements in predicting pregnancy outcome in women with a history of recurrent miscarriage. Hum Reprod*.1998;**13**:3525-3529.
145. Wolf GC, Horger EO, 3rd. *Indication for examination of spontaneous abortion specimens. Am J Obstet Gynecol*.1995;**173**:1364-1368.
146. Vidal F, Rubio C, Simon C, et al. *Is there a place for preimplantation genetic screening in recurrent miscarriage patients? J Reprod Fertil Suppl*. 2000;**55**:143-146.
147. Remohi J, Gallardo E, Levy M, et al. *Oocyte donation in women recurrent pregnancy loss. Hum Reprod* 1996;**11**:2048-2051.
148. Marc Dhont, *Recurrent Miscarriage Current Women's Health Reports* .2003;**3**:361–366.

149. Boue J, Boue A, Lazar P: *Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous abortions. Teratology* 1995;**12**:11-16.
150. Jaleh Zolghadri, Zohreh Tavana, Talie Kazerooni, Mahmoud Soveid, Marzieh Taghieh, M.D. *Relationship between abnormal glucose tolerance test and history of previous recurrent miscarriages, and beneficial effect of metformin in these patients: a prospective clinical study. Fertility and Sterility*. 2008;**90**(3):727-730.
151. Glueck CJ, Phillips H, Cameron D, Siere-Smith L, Wang P. *Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovarian syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study. Fertil Steril* 2001;**75**:46-52.
152. Thatcher SS, Jackson EM. *Pregnancy outcome in infertile patients with polycystic ovary syndrome who were treated with metformin Fertil Steril*. 2006;**85**(4):1002-9.
153. Jakubowicz DJ, Iuorno MJ, Jakubowicz S, Roberts KA, Nestler JE. *Effects of metformin 63 on early pregnancy loss in the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab*. 2002;**87**(2):524-9.
154. Palomba S, Falbo A, Orio F Jr, Russo T, Tolino A, Zullo F. *Metformin hydrochloride and recurrent miscarriage in a woman with polycystic ovary syndrome. Fertil Steril*. 2006;**85**(5):1511.3-5.
155. Ramidi G, Khan N, Glueck CJ, Wang P, Goldenberg N. *Enoxaparin-metformin and enoxaparin alone may safely reduce pregnancy loss. Transl Res*. 2009;**153**(1):33-43.
156. Summers PR. *Microbiology relevant to recurrent miscarriage Clin. Obstet Gynecol* 1994;**37**:722-729.
157. Ober C, Karrison T, Odem RR, et al. *Mononuclear cell immunisation in prevention of recurrent miscarriages : a randomized trial. Lancet* 1999;**354**:365-369.
158. Vaquero E, Valensise H, Menghini S, et al. *Pregnancy outcome in recurrent spontaneous abortion associated with antifosfolipid antibodies: a comparative study of intravenous immunoglobulin versus prednisone plus low-dose aspirin . Am J Reprod Immunol Microbiol*. 2001 ;**45**:174-179.
159. Poglár K, Hill JA. *Progesterone inhibits invitro embryotoxic factor production in women with recurrent spontaneous abortion. Proc Soc Gynecol Invest*. 1994;**41**:22-26.

160. Baykal, C., Al, A., Demirtas, E. And Ayhan, A., *Comparison of enoxiparin and standart heparin in gynaecologic oncologic surgery: a randomised.*
161. Vince G, Christmas SE, Johnson PM. *Understanding cellular and humoral immunity. Infertility and Reproductive Clinics of North America* 2002; **13**: 1–17.
162. King A, Burrows T, Verma S, et al. *Human uterine leukocytes. Hum Reprod Update* 1998; **4**:480–485.
163. Moffett A, Regan L, Braude P. *Natural killer cells, miscarriage, and infertility. BMJ* 2004; **329**:1283–1285.
164. Joanne Kwak-Kim^{1,2}, Alice Gilman-Sachs² Clinical Implication of Natural Killer Cells and Reproduction. *American Journal of Reproductive Immunology Authors* 388 *Journal compilation a Blackwell Munksgaard.* **59** (2008) 388–400.
165. Chantakru S, Miller C, Roach LE, Kuziel WA, Maeda N, Wang W-C, Evans SS, Croy BA: *Contributions from self-renewal and trafficking to the uterine NK cell population of early pregnancy. J Immunol* 2002;**168**:2228.
166. King A, Balendran N, Wooding P, et al. *CD3-leukocytes present in the human uterus during early placentation: phenotypic and morphologic characterization of the CD56++ population. Dev Immunol* 1991; **1**:169–190.
167. Manaster I, Mandelboim O: *The unique properties of human NK cells in the uterine mucosa. Placenta* 2007.
168. Trundley A, Moffett A. *Human uterine leukocytes and pregnancy. Tissue Antigens* 2004; **63**:1–12.
169. Koopman LA, Kopcow HD, Rybalov B, et al. *Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential. J Exp Med* 2003; **198**:1201–1212.
170. Lobo SC, Huang S-J, Germeyer A, et al. *The immune environment in the human endometrium during the window of implantation. Am J Reprod Immunol* 2004; **52**:244–251.

171. Trundley A, Moffett A. Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue Antigens* 2004; **63**:1–12.
172. Slukvin II, Breburda EE, Golos TG. *Dynamic changes in primate endometrial leukocyte populations: differential distribution of macrophages and natural killer cells at the rhesus monkey implantation site and in early pregnancy. Placenta* 2004; **25**:297–307.
173. Michou VI, Kanavaros P, Athanassiou V, Chronis GB, Stabamas S, Tsilivakos V: *Fraction of the peripheral blood concentration of CD56+ / CD16) / CD3 cells in total natural killer cells as an indication of fertility and infertility. Fertil Steril* 2003; **80(Suppl. 2)**:691–697.
174. Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, Ogasawara M, Okada S, Yagami Y, Gleicher N: *Preconceptional natural-killer-cell activity as a predictor of miscarriage. Lancet* 1995; **345**:1340–1342.
175. Yamada H, Hirayama Kato E, Ebina Y, Shimada S, Morikawa M, Sakuragi N, Fujimoto S, Kobashi G: *High NK cell activity in early pregnancy correlates with subsequent abortion with normal chromosomes in women with recurrent abortion. Am J Reprod Immunol* 2001; **46**:132–136.
176. Shakhar K, Ben-Eliyahu S, Loewenthal R, et al. *Differences in number and activity of peripheral natural killer cells in primary versus secondary recurrent miscarriage. Fertil Steril* 2003; **80**:368–375.
177. Yamada H, Morikawa M, Kato EH, et al. *Pre-conceptional natural killer cell activity and percentage as predictors of biochemical pregnancy and spontaneous abortion with normal chromosome karyotype. Am J Reprod Immunol* 2003; **50**:351–354.
178. Aoki K, Kajiura S, Matsumoto Y, et al. *Preconceptional natural-killercell activityas a predictor of miscarriage. Lancet* 1995; **345**:1340– 1342.
179. Beer AE, Kwak JY, Ruiz JE. *Immunophenotypic profiles of peripheral blood lymphocytes in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple failed in vitro fertilization cycles. Am J Reprod Immunol* 1996; **35**:376–382.
180. Kwak JY, Kwak FM, Gilman-Sachs A, et al. *Immunoglobulin G infusion treatment for women with recurrent spontaneous abortions and elevated CD56+ natural killer cells. Early Pregnancy* 2000; **4**:154–164.

182. Shimada S, Iwabuchi K, Kato EH, et al. *No difference in natural-killer-T cell population, but Th2/Tc2 predominance in peripheral blood of recurrent aborters.* *Am J Reprod Immunol* 2003; **50**:334–339.
183. Yamamoto T, Takahashi Y, Kase N, Mori H. *Role of decidual natural killer (NK) cells in patients with missed abortion: differences between cases with normal and abnormal chromosome.* *Clin Exp Immunol* 1999; **116**:449– 452.
184. Lachapelle MH, Miron P, Hemmings R, Roy DC. *Endometrial T, B, and NK cells in patients with recurrent spontaneous abortion. Altered profile and pregnancy outcome.* *J Immunol* 1996; **156**:4027–4034.
185. Fukui K, Yoshimoto I, Matsubara K, et al. *Leukocyte function-associated antigen-1 expression on decidual natural killer cells in patients with early pregnancy loss.* *MolHum Reprod* 1999; **5**:1083–1088.
186. Natural Killer, Natural Killer T, Helper and Cytotoxic T Cells in the Decidua from Sporadic Miscarriage Shigeki Shimada¹, Ryutaro Nishida¹, Masamitsu Takeda¹, Kazuya Iwabuchi², Reiko Kishi³, Kazunori Onoe², Hisanori Minakami¹, Hideto Yamada¹ *American Journal of Reproductive Immunology* 56 (2006) 193–200 ^a 2006 *The Authors Journal compilation* ^a 2006 *Blackwell Munksgaard* 193.
187. Quack KC, Vassiliadou N, Pudney J, et al. *Leukocyte activation in the decidua of chromosomally normal and abnormal fetuses from women with recurrent abortion.* *Hum Reprod* 2001; **16**:949–955.
188. Tuckerman E, Laird SM, Prakash A, Li TC: *Prognostic value of the measurement of uterine natural killer cells in the endometrium of women with recurrent miscarriage.* *Hum Reprod* 2007; **22**:2208–2213.
189. Kwak JY, Beer AE, Kim SH, Mantouvalos HP: *Immunopathology of the implantation site utilizing monoclonal antibodies to natural killer cells in women with recurrent pregnancy losses.* *Am J Reprod Immunol* 1999; **41**:91–98.
190. Vassiliadou N, Bulmer JN: *Immunohistochemical evidence for increased numbers of 'classic' CD57+ natural killer cells in the endometrium of women suffering spontaneous early pregnancy loss.* *Hum Reprod* 1996; **11**:1569–1574.
191. Hill JA, Melling GC, Johnson PM: *Immunohistochemical studies of human*

- uteroplacental tissues from first-trimester spontaneous abortion 87 Clifford K, Flanagan AM, Regan L: *Endometrial CD56+ natural killer cells in women with recurrent miscarriage: a histomorphometric study. Hum Reprod* 1999; **14**:2727–2730.
192. Quenby S, Bates M, Doig T, Brewster J, Lewis-Jones DI, Johnson PM, Vince G: *Pre-implantation endometrial leukocytes in women with recurrent miscarriage. Hum Reprod* 1999; **14**:2386–2391.
193. Michimata T, Ogasawara MS, Tsuda H, Suzumori K, Aoki K, Sakai M, Fujimura M, Nagata K, Nakamura M, Saito S: *Distributions of endometrial NK cells, B cells, T cells, and Th2 / Tc2 cells fail to predict pregnancy outcome following recurrent abortion. Am J Reprod Immunol* 2002; **47**:196–202.n. *Am J Obstet Gynecol* 1995; **173**:90–96.
194. Vince GS, Johnson PM: *Materno-fetal immunobiology in normal pregnancy and its possible failure in American Journal of Reproductive Immunology* 59 (2008) 388–400 a 2008 The Authors 396 *Journal recurrent spontaneous abortion? Hum Reprod* 1995; **10(Suppl. 2)**:107–113.
195. Hiby SE, Walker JJ, O'Shaughnessy KM, Redman CWG, Carrington M, Trowsdale J, Moffett A: *Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. J Exp Med* 2004; **200**:957–965.
196. McMaster MT, Librach CL, Zhou Y, Lim KH, Janatpour MJ, DeMars R, Kovats S, Damsky C, Fisher SJ: *Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts. J Immunol* 1995; **154**:3771–3778.
197. Avril T, Jarrousseau A-C, Watier H, Boucraut J, Le Bouteiller P, Bardos P, Thibault G: *Trophoblast cell line resistance to NK lysis mainly involves an HLA class I-independent mechanism. J Immunol* 1999; **162**:5902–5909.

10-EKLER

10.1. Katılımcı Bilgilendirme Formu

1. Çalışmanın adı: Açıklanamayan infertilitesi olan hastaların endometriyumlarında doğal öldürücü hücre yoğunluğunun değerlendirilmesi.

2. Araştırmacıların adları, kurumları ve iletişim numaraları.

	<i>Adı ve Unvanı</i>	<i>Bölümü</i>	<i>Dahili Telefonu</i>	<i>E-posta adresi</i>
<i>Sorumlu araştırmacı</i>	Arş.Gör.Dr. Nagihan Yılmaz	Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı	3038433	nagihyilmaz@yahoo.com
<i>Danışman</i>	Prof. Dr. Aydın Çorakçı	Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı	3037036	
<i>Bilimsel Destek Sağlayan Araştırmacılar</i>	Prof. Dr. Erdal Karaöz	KÖGEM	3038586	ekaraoz@hotmail.com
	Yard. Doç.Dr. Gülçin Gacar	KÖGEM	3038586	

3. Araştırma amacının anlaşılır ve özet açıklaması: Rahim iç zarında bulunan bağışıklık sistemi hücrelerinin tekrarlayan düşükleriniz üzerine etkisini araştırmak.

4. Neden ben seçildim? Sizin gibi tekrarlayan düşük hastalığı bulunan bazı kişilerde bu duruma sebep olarak bağışıklık sistemi kaynaklı birtakım hücreler sorumlu tutulmaktadır. Bu hücrelerin rahim içi zarına tutunan embriyoya zarar

verdiği düşünülmektedir. Bu yüzden bu çalışmanın size ve sizin durumunuzdaki diğer hastalara faydalı olacağını düşünmekteyiz.

- 5. Araştırmaya katılmak / bir kez katıldıktan sonra sonuna kadar devam etmek zorunda mıyım?** Araştırmamıza katılma mecburiyetiniz kesinlikle yoktur. Bir kez katılmaya karar verip daha sonra vazgeçmeye karar vererseniz araştırma dışı bırakılacaksınız ve sizinle ilgili bütün veriler bilginiz dahilinde imha edilecektir.
- 6. Katılmayı kabul edersem bana ne yapılacaktır?** Araştırma amaçlı hiçbir uygulama yapılmayacaktır. Tedaviniz için gerekli olan, adet döneminizin 2. yarısında yumurtlama olup olmadığının kesin tespiti için rahim içinden örnek doku alınacak. Bu örnek dokudan bir miktar da araştırma için kullanılacaktır.
- 7. Araştırmaya katılmanın olası zararları ve riskleri nelerdir?** Bu çalışmanın herhangi bir zararı yoktur. Sadece rahim iç duvarından sıvı/doku alınırken geçen süre olan 1 dakika içinde adet ağrısı hissedebilirsiniz. Günümüzde rutinde kullanılan yöntemler size uygulanacaktır ve bu uygulamaların her aşamasında sizin onayınız alınacaktır.
- 8. Araştırmaya katılmanın olası yararları nelerdir?** Araştırma sonucu elde edilecek sonuçlarla sizde tespit ettiğimiz ve gebe kalmanıza engel olabilecek bağışıklık sistemi sorunlarını belirlememize ve sizin için daha uygun tedavi yöntemleri belirlememize yardımcı olabilecektir.
- 9. Araştırma masrafları:** Bu araştırma size herhangi bir maddi yük getirmeyecektir.
- 10. Araştırmada ters giden bir şey olursa?** Konuyla ilgili derhal bilgilendirilecek ve araştırma bilginiz dahilinde sonlandırılacaktır.
- 11. (Tedavi edici araştırmalarda) Alternatif tedavi/tanı yöntemleri nelerdir?** Yok.
- 12. Kimlik bilgilerim ve elde edilen verilerin gizliliği nasıl sağlanacak?** Veriler sadece sorumlu hekimin ulaşabileceği gizli bir dolapta saklanacaktır. Çalışma sonuçları bilim dünyasıyla paylaşılırken kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır.
- 13. Araştırma sonunda bana bilgi verilecek mi?** Araştırmanın sizinle ilgili bütün sonuçları hakkında bilgilendirileceksiniz. Genetik test sonucu size verilecektir.
- 14. Araştırma sonuçlarına ne olacak?** Araştırma sonuçları (kimlik bilgileriniz saklı olacak şekilde) bilimsel yayın olarak değerlendirilecek ve yeni tanı ve tedavi metotları bulma yolunda bize yardımcı olacaktır.
- 15. Daha ayrıntılı bilgi için Doç. Dr. Eray Çalışkan'a 0262 3037142 no'lu telefondan ya da dreraycaliskan@yahoo.com adresinden ulaşabilirsiniz.**
- 16. Teşekkür:** Bu çalışmaya katılımınız ve desteğinizden dolayı çok teşekkür ederim.
- 17. İAEK onayı:** Bu araştırma Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından değerlendirip uygun bulunmuştur.

18. Őikâyet için başvuru adresi verilmelidir; Bu araştırma Kocaeli Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Araştırmaya katılımınız ile ilgili herhangi bir Őikayetiniz varsa Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı Başkanı Prof Dr. Nermin Ersoy (0262 3038121) vasıtasıyla ulaşabilirsiniz. Her tür Őikayetiniz gizlilikle değeriendirilecek, araştırılacak ve sonuç hakkında tarafınıza bilgi verilecektir

10.2. Onam Formu

Araştırmanın Adı: Açıklanamayan infertilitesi olan hastaların endometriyumlarında doğal öldürücü hücre yoğunluğunun değerlendirilmesi.

	Evet	Hayır
Hasta Bilgilendirme Formunu okudunuz mu?	☐	☐
Araştırma projesi size sözlü olarak da anlatıldı mı?	☐	☐
Size araştırmayla ilgili soru sorma, tartışma fırsatı tanındı mı?	☐	☐
Sorduğunuz tüm sorulara tatmin edici yanıtlar alabildiniz mi?	☐	☐
Araştırma hakkında yeterli bilgi aldınız mı?	☐	☐
Herhangi bir zamanda herhangi bir nedenle ya da neden göstermeksizin araştırmadan çekilme hakkına sahip olduğunuzu anladınız mı?	☐	☐
Araştırma sonuçlarının uygun bir yolla yayınlanacağına katılıyor musunuz?	☐	☐
Yukarıdaki soruların yanıtları size kim tarafından açıklandı? <i>Lütfen ismini yazınız....</i>		

İmza:

Adı / Soyadı:

Tarih:

10.3. Tekrarlayan Gebelik Kaybı Sosyodemografik Form:

Ad-soyad:

Dosya no:

Meslek:

Kan grubu:

Boy:

Kilo:

Eğitim durumu:

0-yok

1-ilk

2-orta

3-lise

4-yüksek

Maternal sistemik hastalık:

0-yok

1-var

Tütün kullanımı:

0-yok

1-gebelik sırasında

Uterus anomalisi:

(0) yok

(1) uterus unikornuatus

(2) uterus didelfus

(3) uterus bikornuatus

(4) uterin septum

(5) uterus arkuatus

(6) DES'e bağlı anomaliler

İnfertilite tedavisi:

0-yok

1-var

Özgeçmiş:

Sigara: 0-yok

1-var

İlaç: 0-yok

1-var

KAH: 0-yok

1-var

HT: 0-yok

1-var

MI: 0-yok

1-var

DVT: 0-yok

1-var

SVO: 0-yok

1-var

Felç: 0-yok

1-var

DM: 0-yok

1-var

Operasyon: 0-yok

1-var

Karyotip:kadın 0-Normal

1-46XX

2-Diğer (açık)

Karyotip erkek: 0-Normal

1-46XY

2-Diğer (açık)

Soygeçmiş:

KAH: 0-yok 1-var	1-var	HT: 0-yok 1-var	MI: 0-yok 1-var
DVT: 0-yok 1-var	1-var	SVO: 0-yok 1-var	Felç: 0-yok 1-var
DM: 0-yok İnfertilite: 0-yok 1-var	1-var	Operasyon: 0-yok TGK: 0-yok 1-var	İn-utero ex: 0-yok 1-var
Plasenta dekolmanı: 0-yok 1-var	1-var	Preeklampsi: 0-yok 1-var	Eklampsi: 0-yok 1-var
Preterm eylem: 0-yok 1-var	1-var	IUGR: 0-yok 1-var	HELLP: 0-yok 1-var

Önceki gebelik:

İn-utero ex: 0-yok 1-var	1-var	Plasenta dekolmanı: 0-yok 1-var	1-var
Preeklampsi: 0-yok 1-var	1-var	Eklampsi: 0-yok 1-var	1-var
Preterm eylem: 0-yok 1-var	1-var	IUGR: 0-yok 1-var	1-var
HELLP: 0-yok 1-var	1-var	Abort: 0-yok 1-var	1-var
A1 kaç hafta: A2 kaç hafta: A3 kaç hafta: A4 kaç hafta: A5 kaç hafta: A6 kaç hafta:		FKA: 0-yok FKA: 0-yok FKA: 0-yok FKA: 0-yok FKA: 0-yok FKA: 0-yok	1-var 1-var 1-var 1-var 1-var 1-var
Servikal serklaj: 0-yok 1-var	1-var		
Serklaj haftası:			
Protein C:		Protein S:	
Fibrin:		FDP:	Fibrinojen:
PT:		aPTT:	INR:
AKŞ:		Insulin:	
TSH:	ft3:	ft4:	
Anti Tiroglobulin:	Anti TSH reseptor:		
ANA:	Antikardiolipin:		

Anti ds DNA:

Homosistein:

Folik a:

Toxoplasma IgM:	(0) negatif (1) pozitif	Toxoplasma IgG:	(0) negatif (1) pozitif
CMV IgM:	(0) negatif (1) pozitif	CMV IgG:	(0) negatif (1) pozitif
Rubella IgM:	(0) negatif (1) pozitif	Rubella IgG:	(0) negatif (1) pozitif

Faktör V Leiden:	0-yok	1-heterozigot	2- homozigot
FV H:	0-yok	1-var	
Protrombin:	0-yok	1-var	Faktör XIII: 0-yok 1-var
Fibrinojen:	0-yok	1-var	PAI: 0-yok 1-var
HPA:	0-yok	1-var	MTHFR: 0-yok 1-var
APO B:	0-yok	1-var	APO E: 0-yok 1-var
ACE:	0-yok	1-var	

Aspirin:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)
----------	-------	----------	------------	------------

Folik plus:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)
Folbiol:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)
Tinzaparin:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)
Enoxaprin:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)
Deltaparin:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)
Progesteron:	0-yok	1- <3 ay	2-kese (+)	3- FKA (+)

Bu gebelikte:

Servikal serklaj: 0-yok 1-var

Serklaj haftası:

Doğumun gerçekleştiği gün/hafta:

Doğumun başlaması:	0-Spontan	1-latrojenik	2-PPROM sonrası
Cytotec indüksiyonu:	0-yok	1-var	
Oksitosin indük-augmentasyonu:	0-yok	1-var	Epidural:
Sezaryen:	0-yok	1-var	Hidrasyon:

Preterm membran rüptürü:	0-yok	1-var	
Doğum eyleminde ateş:	0-yok	1-var	
Postpartum ateş:	0-yok	1-var	
Semptomatik vaginal akıntı:	0-yok	1-var	
Preterm eylem:	0-yok	1-var	
<i>Hipertansiyon:</i>	<i>0-yok</i>	<i>1-Kronik</i>	<i>2-Preeklampsi</i>

3-Eklampsi 4-HELLP

Antihipertansif:	0-yok	1-var	
Pl dekolmanı:	0-yok	1-var	
IUGR:	0-yok	1-var	
Diabet:	0-yok	1-Tip 1	2-GDM
3-Tip 2			
DM var ise İnsülin kullanımı:	0-yok	1-var	

YENİDOĞAN:

Doğum ağırlığı:			
APGAR	1.dk:	5.dk:	10.dk:
NICU başvurusu:	0-yok	1-var	
Ventilasyon ihtiyacı:	0-yok	1-var	
Sürfaktan ihtiyacı:	0-yok	1-var	
Ölü doğum:	0-yok	1-var	
Perinatal ölüm:	0-yok	1-var	
Bronkopulmoner displazi:	0-yok	1-var	
Prematürite retinopatisi:	0-yok	1-var	
<i>İntra-periventriküler hemoraji:</i>	<i>0-yok</i>	<i>1-var</i>	
Mekonyum:	0-yok	1-var	
Pozitif plasental kültür:	0-yok	1-var	
Fetal hospitalizasyon süresi:			

